



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Estudo da morfologia do endotélio corneal em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 2

Versão final após defesa

Joana Filipa Mendes Tiago

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Optometria e Ciências da Visão
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Prof. Doutor Francisco Miguel Pereira Brardo Ferreira

Covilhã, dezembro de 2018

Dedicatória

Dedico este trabalho a duas pessoas muito importantes para mim, que não estando presencialmente estarão eternamente no meu coração e seguirão sempre os meus passos...

Ao meu avô materno, João Penedo
À minha avó paterna, Maria de Lurdes

Agradecimentos

Nesta etapa que agora termina, foram várias as pessoas que ao longo da dissertação de Mestrado tiveram uma grande importância e que, direta ou indiretamente, me ajudaram a cumprir os objetivos desta etapa da minha formação académica.

Ao meu orientador Prof. Doutor Francisco Ferreira o meu sincero agradecimento pela sua competência, rigor científico, acompanhamento do trabalho e sugestões demonstrados ao longo destes meses que contribuíram para a elaboração desta dissertação. Além disso, não posso deixar de agradecer também o convite para colaborar no Centro Clínico e Experimental de Ciências da Visão.

A todos os docentes, quer ao longo destes 2 anos de Mestrado quer durante os 3 anos de licenciatura, contribuíram para a minha formação académica.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional ao longo destes 5 anos de formação académica. Obrigada por desejarem sempre o melhor para mim, a vocês serei eternamente grata pelo que consegui conquistar.

Aos amigos de sempre e para sempre, como também a todos os meus familiares que acreditaram e incentivaram a realização desta dissertação de Mestrado. A todos eu agradeço o facto de nunca duvidarem que seria capaz de chegar aqui, transmitindo sempre ânimo para a realização dos objetivos propostos.

À Andresa, que apenas nos últimos meses tive oportunidade de conhecer melhor, pela ajuda e companheirismo demonstrado.

A todas as pessoas de Belmonte que atenciosamente demonstraram sempre vontade em ajudar e se dirigiram à Covilhã para participarem neste projeto.

Ao ACES Cova da Beira pela autorização da integração dos seus utentes na presente investigação.

A todos os que não enunciei particularmente, mas que de alguma forma ajudaram na realização desta investigação.

A todos um ENORME obrigada!

Resumo

Introdução: A Diabetes Mellitus sendo uma doença crónica e cuja prevalência tem aumentado não só em Portugal como também a nível global torna-se importante perceber qual o seu impacto na superfície ocular. Diversos estudos têm analisado as alterações oculares provocadas pela Diabetes Mellitus, sendo que a retinopatia diabética é a 5ª maior causa de cegueira a nível global. No entanto, como as alterações no segmento anterior permanecem desvalorizadas comparativamente com as do segmento posterior no olho diabético, um dos objetivos deste estudo consiste na quantificação morfológica do endotélio corneal em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 2 para três zonas corneais (central, paracentral e periférica). Por último, outro dos objetivos deste trabalho é perceber se existe correlação entre os fatores de risco associados à diabetes e as alterações ao nível do endotélio corneal.

Metodologia: Ambos os grupos em estudo, diabéticos e não diabéticos, assinaram um consentimento informado e foram sujeitos a avaliação prévia incluindo biomicroscopia, medição da pressão intraocular e retinografia. A análise morfológica do endotélio corneal consistiu na quantificação da densidade celular endotelial, da área celular média, do coeficiente de variação e da hexagonalidade das células endoteliais. Estes parâmetros foram obtidos para três zonas da córnea: zona central, zona paracentral e zona periférica.

Resultados: Relativamente à análise morfológica do endotélio corneal, é possível observar que para todas as zonas em análise não existem diferenças estatisticamente significativas entre diabéticos e não diabéticos. Por último, não existe correlação dos fatores de risco associados à diabetes com as alterações ao nível do endotélio corneal.

Conclusão: A Diabetes Mellitus tipo 2 parece não interferir com a morfologia do endotélio corneal em qualquer das zonas corneais avaliadas. Além disso, neste mesmo estudo não existem fatores de risco associados à diabetes que se possam correlacionar com os parâmetros analisados.

Palavras-chave

Morfologia do endotélio corneal; Diabetes Mellitus tipo 2; microscopia especular de não contacto; fatores de risco

Abstract

Introduction: Diabetes Mellitus is a chronic disease whose prevalence has increased not only in Portugal but also globally it is important to understand its impact on the ocular surface. Several studies have analyzed the ocular changes caused by Diabetes Mellitus, and diabetic retinopathy is the 5th largest cause of blindness worldwide. However, since the changes in the anterior segment remain devalued compared to those of the posterior segment in the diabetic eye, one of the objectives of this study is the morphology quantification of corneal endothelium in individuals with type 2 Diabetes Mellitus for three corneal zones (central, paracentral and peripheral). Finally, another goal of this study is to understand if there is a correlation between the risk factors associated with diabetes and changes in the corneal endothelium.

Methodology: Both groups in the study, diabetic and non-diabetic patients, signed an informed consent and were subject to prior assessment including slit lamp examination, measurement of intraocular pressure and retinography. The morphological analysis of corneal endothelium consisted of quantification of endothelial cell density, mean cell area, coefficient of variation and hexagonality of endothelial cells. These parameters were obtained for three zones of the cornea: central zone, paracentral zone and peripheral zone.

Results: Regarding the morphological analysis of the corneal endothelium, it is possible to observe that for all the zones under analysis there are no statistically significant differences between diabetics and non-diabetics. Finally, there is no correlation between risk factors associated with diabetes and corneal endothelial changes.

Conclusion: Type 2 Diabetes Mellitus does not appear to interfere with the morphology of the corneal endothelium in any of the corneal areas evaluated. In addition, in this same study, there are no risk factors associated with diabetes that can be correlated with the analyzed parameters.

Keywords

Corneal endothelial morphology; diabetes Mellitus type 2; noncontact specular microscopy; risk factors

Índice

Capítulo 1 - Introdução	1
1.1. Enquadramento do tema	1
1.2. Objetivos da investigação	1
1.3. Sumário da estrutura da dissertação	2
Capítulo 2 - Estado da arte	5
2.1. Caracterização da Diabetes Mellitus	5
2.2. Classificação etiológica da Diabetes Mellitus	6
2.2.1. Diabetes Mellitus tipo 1	6
2.2.2. Diabetes Mellitus tipo 2	6
2.2.3. Diabetes Mellitus Gestacional	7
2.2.4. Diabetes Mellitus específicos	8
2.3. Prevalência da Diabetes Mellitus no Mundo	8
2.4. Prevalência da Diabetes Mellitus em Portugal	8
2.5. Diabetes Mellitus e alterações oculares	9
2.5.1. Retinopatia diabética	10
2.5.2. Superfície corneal	11
2.5.3. Endotélio corneal	13
2.6. Estudos prévios	13
Capítulo 3 - Metodologia	17
3.1. Tipologia do estudo	17
3.2. Procedimentos	17
3.3. Critérios de exclusão	20
3.4. Fatores de risco	20
3.5. Metodologia estatística	20
Capítulo 4 - Resultados	23
4.1. Caracterização da amostra	23
4.2. Correlação entre olho direito e olho esquerdo	24
4.3. Morfologia da zona central	24
4.4. Morfologia da zona paracentral	25
4.5. Morfologia da zona periférica	27
4.6. Correlação com fatores de risco	29
4.6.1. Correlação com parâmetros morfológicos da zona central	29
4.6.2. Correlação com parâmetros morfológicos da zona paracentral	32
4.6.3. Correlação com parâmetros morfológicos da zona periférica	34
Capítulo 5 - Discussão	39
Capítulo 6 - Conclusão	43

6.1. Conclusões do estudo	43
6.2. Limitações da investigação	43
6.3. Sugestões de trabalhos futuros.....	44
Bibliografia	45
ANEXOS.....	49
1. Anexo I - Parecer da Comissão de Ética da ARSC	49
2. Anexo II - Consentimento Informado	50
3. Anexo III - Folha de registo	51
4. Anexo IV - Carta de aceitação da comunicação oral do Congresso Internacional de Optometria e Ciências da Visão (CIOCV).....	54

Lista de figuras

- Figura 1.** Exemplo de imagem obtida durante a avaliação morfológica do EC (zona central) com parâmetros obtidos através do microscópio endotelial CEM-530 da NIDEK..... 18
- Figura 2.** Esquema representativo das quinze posições de fixação (lado esquerdo) e da captura de imagens na zona central e paracentral (lado direito). 18
- Figura 3.** Indicações da FDA para estudos sobre microscopia especular do EC 19
- Figura 4.** Esquema síntese da metodologia utilizada. 19

Lista de tabelas

Tabela 1. Quadro resumo da classificação da severidade da RD segundo os sinais clínicos visíveis na oftalmoscopia ou retinografia.	11
Tabela 2. Tabela resumo das conclusões relativas à correlação com fatores de risco.	14
Tabela 3. Tabela resumo de estudos prévios em indivíduos com DMt2 usando microscópios endoteliais de não contacto.	15
Tabela 4. Tabela representativa da distribuição amostral dos indivíduos diabéticos por fator de risco.	23
Tabela 5. Valores do CCI para ambos os grupos em estudo.	24
Tabela 6. Valores médios na zona central da DCE, ACM, CoV e HEX nos grupos em estudo. ..	25
Tabela 7. Valores médios da DCE na zona paracentral nos respetivos grupos em estudo.	25
Tabela 8. Valores médios da ACM na zona paracentral nos respetivos grupos em estudo.	26
Tabela 9. Valores médios do CoV na zona paracentral nos respetivos grupos em estudo.	26
Tabela 10. Valores médios da HEX na zona paracentral nos respetivos grupos em estudo. ...	26
Tabela 11. Valores médios da DCE na zona periférica nos respetivos grupos em estudo.	27
Tabela 12. Valores médios da ACM na zona periférica nos respetivos grupos em estudo.	28
Tabela 13. Valores médios do CoV na zona periférica nos respetivos grupos em estudo.	28
Tabela 14. Valores médios da HEX na zona periférica nos respetivos grupos em estudo.	28
Tabela 15. Correlação dos fatores de risco com os parâmetros do EC na zona central.	30
Tabela 16. Valores médios, na zona central, dos parâmetros morfológicos do EC por cada grupo dos fatores de risco.	31
Tabela 17. Correlação dos fatores de risco com os parâmetros do EC na zona paracentral. ...	32
Tabela 18. Valores médios, na zona paracentral, dos parâmetros morfológicos do EC por cada grupo dos fatores de risco.	33
Tabela 19. Correlação dos fatores de risco com os parâmetros do EC na zona periférica	35

Tabela 20. Valores médios, na zona periférica, dos parâmetros morfológicos do EC por cada grupo dos fatores de risco..... 36

Lista de gráficos

Gráfico 1. Gráfico representativo da prevalência de DM em 2015 segundo a variável sexo e com a patologia diagnosticada ou não.9

Gráfico 2. Gráfico representativo da distribuição amostral segundo a variável sexo para ambos os grupos em estudo..... 23

Lista de acrónimos

ACES	Agrupamento de Centros de Saúde
ACM	Área Celular Média
ADA	Associação Americana da Diabetes do inglês <i>American Diabetes Association</i>
AGE's	Produtos finais de glicação avançada do inglês <i>Advanced Glycation End Products</i>
ARSC	Associação Regional de Saúde do Centro
CCECV	Centro Clínico e Experimental das Ciências da Visão
CCI	Coefficiente de correlação intraclasse do inglês <i>Intraclass Correlation Coefficient</i>
CI	Consentimento Informado
CIOCV	Congresso Internacional de Optometria e Ciências da Visão
CoV	Coefficiente de Variação
DCE	Densidade Celular Endotelial
DGS	Direção Geral de Saúde
DM	Diabetes Mellitus
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
DMt1	Diabetes Mellitus tipo 1
DMt2	Diabetes Mellitus tipo 2
EC	Endotélio corneal
EMD	Edema Macular Diabético
ETDRS	Estudo do tratamento precoce da retinopatia diabética do inglês <i>Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study</i>
FDA	Administração de Alimentação e Medicação do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
HbA1c	Hemoglobina glicada A1c
HEX	Hexagonalidade
HTA	Hipertensão Arterial
IC	Inferior Central
ID	Inferior Direita

IDF	Federação Internacional da Diabetes do inglês <i>International Diabetes Federation</i>
IE	Inferior Esquerda
IMC	Índice de Massa Corporal
IRMA	Anomalias microvasculares intraretinianas do inglês <i>Intraretinal Microvascular Abnormalities</i>
LC	Lentes de contacto
NV	Neovascularização
OD	Olho direito
OE	Olho esquerdo
OMS	Organização Mundial de Saúde
PIO	Pressão Intraocular
PTOG	Prova de Tolerância Oral à Glicose
RD	Retinopatia diabética
RDnp	Retinopatia diabética não proliferativa
RDp	Retinopatia diabética proliferativa
RI	Resistência à Insulina
SC	Superior Central
SD	Superior Direita
SE	Superior Esquerda
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
UBI	Universidade da Beira Interior

Capítulo 1 - Introdução

1.1. Enquadramento do tema

A Diabetes Mellitus (DM) sendo considerada pela Federação Internacional da Diabetes (IDF) uma das patologias metabólicas mais comum no Mundo e cuja prevalência em adultos tem vindo a aumentar nas últimas décadas, essencialmente devido a alterações dramáticas no estilo de vida, em particular nos países em desenvolvimento, e sendo um encargo grave da saúde global torna-se essencial a monitorização da tendência para esta patologia. (1)

No Estudo Carga Global da Doença 2015 (GBD 2015) que refere as causas mais frequentes de anos de vida perdidos por doença e/ou incapacidade em 2015 por região ou país, a DM ocupa o primeiro lugar nos seguintes países e/ou regiões: Brunei, México, região das Caraíbas (Antígua, Barbados, Dominica, Grenada, Jamaica, Porto Rico, Santa Lúcia, São Vincent e Granadinas, Trindade e Tobago), Tawain, Maurícia, região da Oceânia (Samoa Americana, Fiji, Ilhas Marshall, Ilhas Marianas do Norte, Tonga) e ainda na região do Médio Oriente e Norte de África (Bairén, Marrocos, Tunísia). (2)

Em Portugal, segundo o GBD 2015, a DM ocupa o quinto lugar das causas mais frequente de anos de vida perdidos por doença e/ou incapacidade sendo precedido pelas dores no pescoço e costas, AVC, doenças dos órgãos sensoriais e doença cardíaca isquémica. (2)

Desde 2000, também a Federação Internacional da Diabetes (IDF) através de estudos epidemiológicos tem analisado a prevalência da DM a um nível nacional, regional e global. No último estudo efetuado, a IDF conclui que em adultos com idade entre 18 e 99 anos a prevalência estimada da DM era de 8,4% em 2017 e que em 2045 aumentaria para 9,9%. Desta forma, existe uma necessidade urgente dos governos implementarem políticas para garantir o acesso adequado ao tratamento da DM. (3)

Desta forma, sendo a DM um problema de saúde pública que atinge proporções epidémicas é fundamental perceber quais as complicações quer crónicas quer agudas que estão associadas à patologia, pois é a sua frequência e a duração que têm um impacto negativo na qualidade de vida dos indivíduos. (4)

1.2. Objetivos da investigação

A presente investigação tem como objetivo principal analisar a morfologia do endotélio corneal (EC) consistindo na quantificação da densidade celular endotelial (DCE), da área celular média

(ACM), do coeficiente de variação (CoV) e da percentagem de células hexagonais em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 2 (DMt2).

Após obter os valores médios relativos aos parâmetros morfológicos previamente descritos, pretendeu-se correlacionar fatores de risco associados à DM, descritos posteriormente no capítulo 3, com as alterações morfológicas do EC.

Por último, com o intuito de completar a lacuna existente na literatura relativamente à análise morfológica do EC em diabéticos tipo 2, alargou-se a análise do EC à zona paracentral e periférica da córnea.

1.3. Sumário da estrutura da dissertação

A presente dissertação segue a estrutura convencional da Universidade da Beira Interior (UBI) sendo constituída por seis capítulos.

No presente capítulo, referente à Introdução, é apresentada uma pequena nota introdutória para contextualização do tema. Na parte final deste capítulo são apresentados os objetivos da investigação e o sumário estrutural da dissertação.

No capítulo 2, correspondente ao estado da arte, é apresentada a caracterização e classificação etiológica da DM, tal como a sua prevalência no Mundo e em Portugal. Além disso, são indicadas as alterações oculares associadas à diabetes e também a importância do EC. No final deste capítulo, são analisados diferentes estudos realizados previamente.

No capítulo 3, é apresentada a metodologia da presente investigação, sendo esta subdividida em cinco subsecções nas quais se refere a tipologia do estudo, os procedimentos efetuados, os critérios de exclusão, os fatores de risco a correlacionar com os parâmetros morfológicos do EC e a metodologia estatística utilizada.

No capítulo 4 são apresentados os resultados obtidos, sendo estes subdivididos em cinco subsecções: caracterização da amostra, resultados relativos à análise morfológica na zona central, na zona paracentral e na zona periférica, e ainda a correlação dos quatro parâmetros analisados com fatores de risco associados à diabetes.

No capítulo 5 são discutidos os resultados obtidos tendo por base a revisão bibliográfica efetuada.

Por último, o capítulo 6 apresenta as conclusões do presente estudo, as suas limitações e ainda sugestões para trabalhos futuros.

A presente dissertação termina com as referências bibliográficas consultadas e utilizadas ao longo da investigação. Além disto, são ainda apresentados os anexos relativos ao parecer da comissão de ética da Administração Regional de Saúde do Centro (ARSC), o Consentimento Informado (CI), a folha de registo dos dados para todos os participantes no estudo e a carta de aceitação da comunicação oral do Congresso Internacional de Optometria e Ciências da Visão (CIOCV).

Capítulo 2 - Estado da arte

2.1. Caracterização da Diabetes Mellitus

A DM é uma patologia metabólica caracterizada por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção e/ou na ação da insulina. Por sua vez, a hiperglicemia crônica está associada a complicações microvasculares a longo prazo, afetando diversos órgãos, nomeadamente, olhos, rins, nervos, coração. Desta forma, os indivíduos com diabetes têm maior incidência de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. Além disso, é frequente também em pessoas diabéticas a presença de hipertensão arterial (HTA) e anomalias ao nível das lipoproteínas, designada de dislipidemia. (5-7)

A gravidade dos sintomas da DM está associada ao tipo e à duração da diabetes, pois o grau de hiperglicemia reflete a severidade do processo metabólico. Além disso, os sujeitos diabéticos são assintomáticos especialmente na DMt2 durante os primeiros anos da patologia. (6,7)

Segundo a Direção Geral de Saúde (DGS) e outras associações relacionadas com a diabetes, o diagnóstico baseia-se num dos quatro critérios que consideram os parâmetros e valores para plasma venoso na população em geral. Esses critérios são especificamente: glicemia em jejum (pelo menos 8h sem comer) ≥ 126 mg/dL ($\geq 7,0$ mmol/L) ou glicemia ocasional ≥ 200 mg/dL ($\geq 11,1$ mmol/L) ou glicemia ≥ 200 mg/dL ($\geq 11,1$ mmol/L) 2h após prova de tolerância oral à glicose (PTOG) com 75g de glicose ou hemoglobina glicada A1c (HbA1c) $\geq 6,5\%$. (5,7,8)

A percentagem de HbA1c é um marcador bastante utilizado na glicemia crônica pois reflete os níveis médios de glicose no sangue durante um período de 2 a 3 meses. Além disso, o valor da HbA1c desempenha um papel crítico na gestão do paciente com diabetes, uma vez que se correlaciona bem com as complicações microvasculares e, de forma menos significativa, com as macrovasculares. Por um lado, é amplamente utilizado como biomarcador padrão para adequar o controlo glicémico. Por outro lado, é recomendável repetir os testes de HbA1c em pacientes assintomáticos num período de duas semanas para confirmar o diagnóstico. O ponto de corte de HbA1c de diagnóstico de 6,5% está associado a um ponto de inflexão para a prevalência de retinopatia uma vez que a prevalência de RD não proliferativa (RDnp) moderada é quase nula para valores de HbA1c inferiores a 6,5%. (5,6,9)

2.2. Classificação etiológica da Diabetes Mellitus

A classificação proposta em 1997 pela *American Diabetes Association* (ADA) é ainda a mais aceita atualmente. De um modo geral, a ADA classifica e agrupa a DM em quatro grandes grupos, nomeadamente, DM tipo 1 (DMt1), DMt2, DM gestacional (DMG) e outros tipos específicos de DM. (6)

Dos quatro grupos de DM descritos no parágrafo anterior, são mais frequentes a DMt1 e a DMt2 que previamente eram diferenciados com base na dependência terapêutica de insulina, ideia que tem vindo a ser abandonada.

2.2.1. Diabetes Mellitus tipo 1

A DMt1 é um tipo de diabetes que resulta principalmente da destruição das células B do pâncreas, levando à deficiência na produção da insulina. Esta forma de DM inclui diabetes decorrentes da destruição autoimune das células pancreáticas (5-10%) e também diabetes idiopáticos cuja etiologia da destruição celular é desconhecida. Os diabetes idiopáticos são ainda fortemente hereditários e são mais frequentes em descendentes africanos ou asiáticos. (5-7)

2.2.2. Diabetes Mellitus tipo 2

A DMt2 afeta tipicamente adultos com idade superior a 40 anos e está fortemente associada com a obesidade (mais de 80% dos sujeitos com DMt2 são obesos), sedentarismo, historial familiar de DM e etnia. (10)

O desenvolvimento da DMt2 resulta da interação da composição genética do sujeito com o meio ambiente, e também devido à crescente prevalência da obesidade. A sequência patológica para a DMt2 é complexa e implica muitos elementos diferentes que atuam em conjunto para provocar essa doença. Deve existir uma predisposição genética, embora até ao momento seja muito pouco conhecido sobre defeitos genéticos específicos nesta doença. (11,12)

Uma conclusão óbvia é que a alteração do estilo de vida oferece uma oportunidade para reverter a tendência para diabetes. Dito de outra forma, não se pode mudar o conteúdo genético, mas podem-se alterar os fatores ambientais. Independentemente dos fatores genéticos e ambientais, em qualquer sujeito à medida que surge a tendência para a intolerância à glicose, as anomalias adquiridas causam o fenótipo comum que caracteriza a doença. (12)

Historicamente, os clínicos descobriram que controlar a hiperglicemia na DMt2 pode ser difícil e complexo, exigindo frequentemente doses crescentes de agentes antidiabéticos orais e a adição de insulina à terapêutica. Em dois estudos desenvolvidos pelo grupo de Estudo Prospetivo

da Diabetes do Reino Unido (UKPDS) em 1998, apenas 25% dos sujeitos com tratamento intensivo alcançaram valores de HbA1c inferiores a 7% com monoterapia. (11)

Relativamente à fisiopatologia, a DMt2 é uma desordem metabólica crônica e progressiva caracterizada por defeitos na ação e na secreção da insulina. Sobre a sua etiologia, esta permanece ainda desconhecida pois a resistência à insulina (RI) ou a sua secreção reduzida estão claramente envolvidas no desenvolvimento da patologia. Apesar de continuar o debate para definir qual dos dois eventos será primário no aparecimento da DMt2, existe um consenso de que a RI é o principal defeito da DMt2. (10,13)

A RI é um efeito inadequado da atuação da insulina no metabolismo da glicose e é a anomalia metabólica central na maioria dos casos de DMt2. Além disso, desempenha um papel chave nas anomalias metabólicas associadas, tais como dislipidemia e HTA. De uma forma simples, a RI é uma redução de sensibilidade nos tecidos corporais para a ação de insulina. A RI leva a uma reduzida capacidade da insulina promover a saída da glicose no músculo e tecido adiposo, e também suprimir a sua produção pelo fígado após as refeições. A redução da ação da insulina ocorre quando os tecidos alvos são incapazes de responder à circulação de insulina. Assim, para manter o equilíbrio (euglicemia) as células pancreáticas precisam de aumentar a secreção de insulina. No entanto, ao longo do tempo surgem defeitos funcionais na secreção preventiva das células B o que posteriormente leva à intolerância à glicose e, eventualmente, DMt2 e RI. (10,14)

De um modo geral, os defeitos metabólicos que caracterizam e que estão subjacentes à DMt2 formam uma tríade, constituída pela RI, pela disfunção das células B e pela redução da produção de glicose hepática. (13)

Em estágios avançados da DMt2 a secreção de insulina pode ser mínima, indicando a exaustão das reservas das células B e usualmente coincidente com a necessidade urgente de terapêutica com insulina. (10)

Compreender a história natural da DMt2 ajuda os clínicos a identificar os indivíduos com maior risco de desenvolver diabetes e assim desenvolver um plano de tratamento eficaz para aqueles que já possuem a doença. As classes disponíveis de agentes antidiabéticos orais têm diferentes mecanismos de ação e, portanto, são potencialmente eficazes em diferentes estágios da patologia. (13)

2.2.3. Diabetes Mellitus Gestacional

Durante muitos anos, a DMG foi definida como sendo um grau de intolerância à glicose com início durante a gravidez. No entanto, esta definição apesar de facilitar a deteção e classificação da DM tem limitações que foram reconhecidas por muitos anos. A hiperglicemia antes ou durante a gravidez surge associada a um maior risco de efeitos adversos maternos,

fetais e neonatais, e também a um maior risco de desenvolver DM posteriormente. Existem fatores que predispõem para este tipo de DM, nomeadamente, obesidade, historial de DMG, historial familiar de DM, idade da progenitora, síndrome dos ovários policísticos, sedentarismo e exposição a fatores tóxicos. (6,7)

2.2.4. Diabetes Mellitus específicos

Neste grupo de DM incluem-se uma grande variedade de condições relativamente incomuns, nomeadamente, diabetes que se devem a defeitos genéticos das células B do pâncreas que provocam a disrupção funcional ou redução do número de células, diabetes associados a patologias exócrinas do pâncreas, diabetes associados a secreção excessiva de hormonas e a medicação, e por último, diabetes associados a outras doenças ou síndromes genéticas. (7,8)

2.3. Prevalência da Diabetes Mellitus no Mundo

A prevalência da DM, nomeadamente da DMt2, tem vindo a aumentar em todos os países do Mundo. Sabe-se que em 2015 existiam 415 milhões de pessoas com DM, mas no ano de 2040 este valor chegará aos 642 milhões. Apesar dos contínuos avanços tecnológicos e médicos, ainda existem 192 milhões de pessoas com DM que desconhecem a sua presença. Quanto à morbilidade da DM, em 2015 esta patologia provocou 5 milhões de mortes. Sendo que a cada seis segundos morre uma pessoa devido à DM. (15)

2.4. Prevalência da Diabetes Mellitus em Portugal

No ano de 2015 a prevalência estimada da DM na população portuguesa com idade compreendida entre os 20 e os 79 anos correspondia a 13,3% (7,7 milhões de indivíduos). Além disso, é importante salientar que em 44% dos indivíduos a patologia não está diagnosticada o que corresponde a 5,8% da prevalência total da DM. No entanto, constata-se que a prevalência da diabetes já diagnosticada (7,5%) continua a ser superior à não diagnosticada. (15)

No gráfico 1 encontra-se representada a prevalência da DM já diagnosticada e da DM não diagnosticada segundo a variável sexo. Relativamente à prevalência da DM segundo a variável sexo, verifica-se que existe uma diferença entre os homens (15,9%) e as mulheres (10,9%). (15)

No que diz respeito à prevalência da DM diagnosticada e da DM não diagnosticada constata-se que a diferença percentual entre as prevalências é menor nos homens do que nas mulheres. Por sua vez, no grupo dos homens a prevalência da patologia por diagnosticar (7,3%) é superior à mesma prevalência no grupo das mulheres (4,5%). (15)

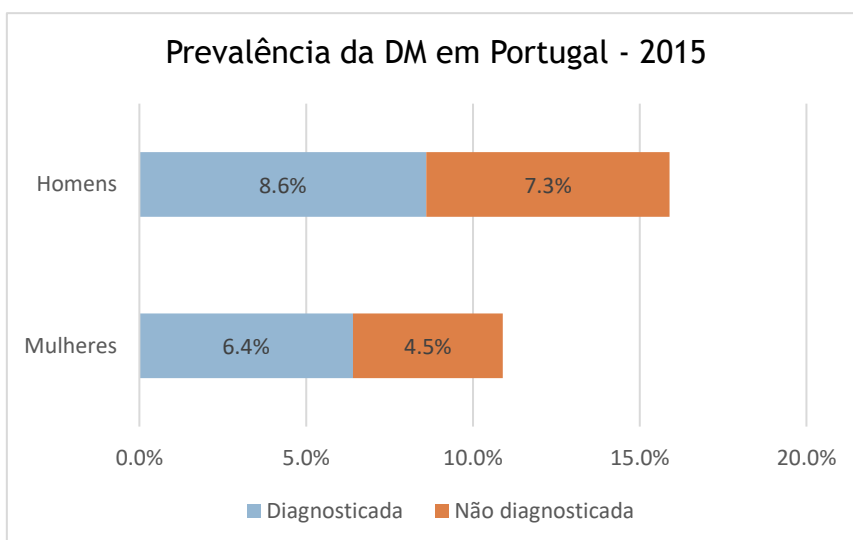


Gráfico 1. Gráfico representativo da prevalência de DM em 2015 segundo a variável sexo e com a patologia diagnosticada ou não. Adaptação de (15).

De acordo com o Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes referente ao ano de 2016, o valor do Índice de Massa Corporal (IMC) está relacionado com a DM. Cerca de 90% da população portuguesa com DM apresenta excesso de peso (49,2%) ou obesidade (39,6%). Além disso, nas pessoas obesas ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) a prevalência da DM é cerca de quatro vezes maior do que nas pessoas com IMC normal ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$). (15)

2.5. Diabetes Mellitus e alterações oculares

A DM está associada ao desenvolvimento de complicações oculares, tais como catarata (2 a 4 vezes mais do que em pessoas sem DM), glaucoma, queratopatia, alterações refrativas, parestesia do nervo oculomotor, inflamação crónica das pálpebras e retinopatia diabética (RD). No entanto, a RD é a maior complicação dos indivíduos com diabetes e a 5ª principal causa de cegueira a nível global. (16,17)

A hiperglicemia tem um efeito tóxico na maioria das células do corpo sendo as suas complicações oculares mais profundas na córnea e, como já foi referido, na retina. Na população diabética, 70% dos indivíduos sofrem de complicações corneais denominadas coletivamente de queratopatia diabética, que incluem erosões recorrentes, cicatrização demorada, úlceras e edema. (18)

As alterações oculares precoces do segmento anterior incluem: microaneurismas conjuntivais, ectrópio uveal, alterações endoteliais como dobras na membrana de Descemet e depósitos pigmentados no EC. No entanto, as alterações oculares ao nível do segmento anterior com queratopatia diabética são mais difíceis de visualizar do que as do segmento posterior pois aparentemente a córnea apresenta-se saudável, mas estão presentes anomalias bioquímicas e estruturais que alteram a função corneal. (17)

As estruturas oculares responsáveis pela manutenção de uma boa qualidade visual (filme lacrimal, córnea, cristalino, vítreo e retina) sofrem numerosas alterações morfológicas, estruturais e fisiológicas com a presença da DM. Como consequência, o futuro da gestão da diabetes, segundo o estudo de *Shih K* e colaboradores, depende do aumento da consciencialização da importância da superfície ocular na patologia e, invariavelmente, uma melhor compreensão da superfície ocular entre os profissionais de saúde visual. (16,19)

Concluindo, a patologia corneal associada à DM é um problema clínico significativo afetando mais de metade da população diabética. No entanto, não tem recebido a devida atenção dos profissionais da visão, permanecendo desvalorizada. (20)

Cristalino

Quando há flutuações nos níveis de glicose, a redução dos níveis de glicose no plasma leva a alterações refrativas hipermetrópicas e a hiperglicemia causa variações no índice de refração do cristalino em pessoas com DM que podem levar ao desenvolvimento de catarata. No entanto, também as alterações hipermetrópicas ocorrem quer haja um aumento ou uma diminuição do nível de glicose plasmática. (16)

Vítreo

A hiperglicemia pode ter um papel direto na patologia associada ao vítreo, alterando a estrutura e a função da rede de colagénio através do *cross-linking* anormal das suas fibrilas, resultando em instabilidade vítrea. Além disso, o aumento dos AGE's nos tecidos é uma característica da DM e pode ter um papel importante na instabilidade, na liquefação prematura e no descolamento posterior do vítreo. (16)

2.5.1. Retinopatia diabética

A RD é a complicação microvascular mais comum da DM, é uma doença progressiva e é causa mais frequente de novos casos de cegueira nos adultos com idade compreendida entre os 20 e os 74 anos. Durante as primeiras duas décadas da doença, a maioria dos pacientes com DM1 e mais de 60% dos pacientes com DM2 têm retinopatia. No entanto, nos estágios iniciais da diabetes quase não surgem sinais de RD que comprometam a visão. A sua gravidade é determinada pela quantidade e tipo de lesões presentes na superfície retiniana. (21-23)

Relativamente à progressão da RD, inicialmente surgem anomalias não proliferativas leves caracterizadas pelo aumento da permeabilidade vascular. Posteriormente, surgem anomalias não proliferativas moderadas a graves, caracterizadas por oclusão vascular. Por último, num estado avançado da doença, ocorre o crescimento de novos vasos sanguíneos na retina e na superfície posterior do vítreo. (22)

Na RD podem surgir diferentes sinais clínicos, nomeadamente, microaneurismas, hemorragias, exudados, manchas algodinosas, anomalias microvasculares intraretinianas (IRMA's) também

designadas de hemorragias intraretinianas, neovascularização (NV) e edema macular (EMD). Desta forma, a classificação atual da RD baseia-se na localização, extensão e grau das várias características clinicamente significativas, previamente descritas. (21,23,24)

Ao longo dos anos, têm sido propostos diversos sistemas de classificação para descrever a gravidade da RD. A classificação da RD, conforme delineada pelo Estudo do Tratamento Precoce da Retinopatia Diabética (ETDRS), é agora amplamente aceite. (25)

De seguida, é apresentado um quadro resumo da classificação da RD baseada na classificação da ETDRS, no sentido de tornar mais fácil a comunicação entre todos os profissionais de saúde visual (tabela 1).

Tabela 1. Quadro resumo da classificação da severidade da RD segundo os sinais clínicos visíveis na oftalmoscopia ou retinografia. Adaptação de [26].

CLASSIFICAÇÃO DA RD	SINAIS CLÍNICOS
Sem RD aparente	Sem alterações
RDnp ligeira	Apenas microaneurismas
RDnp moderada	Mais microaneurismas do que na RDnp ligeira, mas menos do que na RDnp severa
RDnp severa (se em vez de “ou” se considerar “e” pode-se classificar RDnP muito severa)	Qualquer dos seguintes: - mais do que 20 hemorragias intraretinianas em cada um dos 4 quadrantes - Anomalias venosas em rosário (<i>venous beading</i>) em 2 ou mais quadrantes - IRMA's pelo menos num quadrante Sem sinais de RD proliferativa
RD proliferativa	Neovascularização ou Hemorragia vítrea/pré-retiniana

2.5.2. Superfície corneal

Filme lacrimal

Algumas manifestações oculares da DM estão associadas à disfunção da glândula lacrimal e foram relacionadas ao olho seco. Vários estudos clínicos demonstraram que as pessoas com DM são mais vulneráveis ao olho seco do que indivíduos não diabéticos. No entanto, os mecanismos responsáveis pelas mudanças na superfície ocular com a DM ainda não são claros. (16)

Em pacientes diabéticos, a diminuição da estabilidade do filme lacrimal correlaciona-se com neuropatia, reduzido controlo glicémico e redução da densidade das células goblet. De um modo geral, as anomalias do filme lacrimal dos sujeitos diabéticos e o olho seco são problemas clínicos sérios e também podem contribuir para a queratopatia diabética. (20)

Córnea

O peso da diabetes é amplamente confinado a órgãos-alvo, mas tem sido desvalorizado que o órgão mais superficial e transparente afetado pela diabetes é a córnea. Diferentes componentes da córnea (epitélio, nervos e endotélio) sustentam as complicações sistémicas específicas da diabetes nesta estrutura ocular. (19)

O surgimento de erosões recorrentes, cicatrização demorada, aumento da fragilidade epitelial, funções de barreira epitelial e endotelial alteradas, úlceras, edema e aumento da suscetibilidade à lesão deve-se à disfunção celular e à disfunção dos mecanismos de reparação corneal. Todos estes sinais e alterações significativas são descritos como queratopatia diabética. Além disso, a neuropatia ocorre também na córnea diabética, resultando na perda de sensibilidade e inervação corneal, que pode estar relacionada a defeitos epiteliais da córnea. (16,18)

As alterações corneais na DM, previamente descritas, são frequentes, mas insuficientemente explicadas e identificadas quer na DMt1 quer na DMt2. Estas mudanças estruturais da córnea geralmente resultam da acumulação dos produtos finais de glicação avançada (AGE's), o que leva ao *cross-linking* proteico e à destruição das estruturas celulares. (17,20)

Além do epitélio, o EC desempenha um papel vital na manutenção do estroma desidratado. Isto ocorre devido à ação de bombeamento ativo do fluido da córnea para a câmara anterior pelas células endoteliais da córnea. (19)

A preservação da espessura corneal normal depende de uma função de barreira intacta por um endotélio saudável. Desta forma, a morfologia anormal das células endoteliais da córnea combinada com aumento da espessura corneal é uma indicação da disfunção das células endoteliais. Além disso, alterações da função da bomba endotelial podem tornar a córnea mais propensa à descompensação e ao desenvolvimento de queratopatia bolhosa. (17)

Concluindo, a queratopatia secundária à diabetes é cada vez mais reconhecida como causa da morbidade corneal em sujeitos com esta patologia. Assim, o diagnóstico de queratopatia diabética num estágio inicial ajudará a iniciar os tratamentos adequados para prevenir novas complicações. (17)

2.5.3. Endotélio corneal

O EC sendo a camada mais posterior da córnea e sendo constituída por uma monocamada de células poligonais dispostas regularmente, forma uma interface crítica entre a câmara anterior e o estroma corneal. (28)

A nível funcional, sendo uma estrutura permeável, tem um papel importante na manutenção da hidratação estromal e da transparência corneal pela remoção constante de fluido do estroma através de uma bomba metabólica ativa. Além de funcionar como bomba ativa de água e de iões do estroma para o humor aquoso funciona também como barreira ao movimento do fluido corneal. A combinação destes dois mecanismos tem sido muitas vezes designada como mecanismo 'pump-leak' do EC. (27,28)

Quando a função endotelial falha, o humor aquoso difunde-se no estroma corneal e produz edema corneal. Portanto, o controlo da hidratação estromal é a função mais importante das células endoteliais. (27)

Numa córnea saudável, mais de 60% das células do EC são hexagonais. No entanto, esta percentagem decresce com a idade e com a utilização de lentes de contacto (LC). Quando algumas células endoteliais desaparecem devido ao envelhecimento, a trauma ou outro stress, as restantes células não são capazes de substituir as células mortas. Em vez disso, aumentam de tamanho para cobrir o espaço ocupado pelas células que desapareceram com o objetivo de manter a monocamada intacta. (27)

Em suma, o estudo morfológico do EC tem sido alvo de estudo especialmente em indivíduos diabéticos sendo que os resultados permanecem controversos. Além disso, também alguns investigadores analisam a possível correlação de fatores de risco associados à diabetes com a morfologia do EC. (16,30-34)

2.6. Estudos prévios

No âmbito dos estudos realizados na mesma área de investigação da presente tese, apresentam-se agora cinco estudos mais recentes, realizados durante os anos de 2016 e 2017. No final desta secção será apresentado um quadro resumo de alguns estudos realizados em indivíduos com DMt2 correlacionando a morfologia do EC com a diabetes e usando microscópios espaciais de não contacto.

Da pesquisa bibliográfica realizada constata-se que outros estudos, a que foi possível aceder, analisam apenas a zona central do EC, diferindo entre si no que diz respeito aos parâmetros endoteliais analisados, às conclusões obtidas e à correlação desses mesmos parâmetros com fatores de risco.

No que diz respeito às conclusões obtidas, Manisha Gupta e colaboradores, verificam que a DCE é menor nos diabéticos enquanto que a ACM e o CoV não diferem entre diabéticos e não diabéticos. (29) Por sua vez, Shukla E. e colegas, mostraram que a DCE é menor nos indivíduos diabéticos enquanto que o CoV é maior nesse mesmo grupo. (31)

Rao K., EL-Agamy A., Sumit e respetivos colaboradores, consideram que a DCE decresce nos diabéticos sendo que Rao K. et al., não consideram esse decréscimo estatisticamente significativo. Relativamente ao CoV e à HEX, Rao K., Sumit e respetivos colaboradores, concluem que não existem diferenças entre diabéticos e não diabéticos. Por último, EL-Agamy A., et al., indica que nos diabéticos existe um aumento do CoV e uma redução na HEX, não tendo qualquer significância estatística esta redução. (32-34)

Na tabela 2 são apresentadas as conclusões relativas à correlação dos parâmetros morfológicos com fatores de risco para todos os autores descritos, anteriormente. (30-34)

Tabela 2. Tabela resumo das conclusões relativas à correlação com fatores de risco.

<i>Autores</i>	Conclusões
<i>Manisha Gupta et al.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • HbA1c > 7% e diagnóstico de DM >10 anos ⇒ redução da DCE
<i>Shukla EJ et al.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Maiores valores de HbA1c ⇒ redução da DCE e aumento do CoV • Não é possível estabelecer uma forte correlação entre a duração da DM e a morfologia do EC
<i>Rao KRS et al.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Não analisam correlação da morfologia do EC com fatores de risco
<i>EL-Agamy A et al.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico de DM ≤10 anos e valores de HbA1c ≤7,5% ⇒ aumento da DCE e da HEX (sem diferenças estatisticamente significativas) • Não existem diferenças na morfologia do EC de acordo com a severidade de RD
<i>Sumit et al.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • A duração da DM, severidade de RD e HbA1c não afetam a morfologia do EC

Além dos autores referidos previamente, outros investigadores dedicaram-se ao estudo da morfologia do EC nos diabéticos tipo 2, diferindo nos parâmetros avaliados. Desta forma, para melhor perceber os parâmetros avaliados e as conclusões obtidas são apresentados na tabela 3 alguns dos estudos efetuados em indivíduos com DMt2 usando microscópios endoteliais que não implicam contacto direto com a córnea. (30-41)

Tabela 3. Tabela resumo de estudos prévios em indivíduos com DMt2 usando microscópios endoteliais de não contacto. Adaptação de [36,42]

Estudo	População (casos/controlos)	DCE	ACM	CoV	HEX
Inoue et al. (2002)	99/97	↓	x	↑	↓
Shudir et al. (2012)	1191/120	↓	x	=	=
Calvo-Maroto AM et al. (2014)	77/80** (olhos)	= para DM<1A ↓ para DM≥10A	x	x	x
Allan Storr-Paulsen et al. (2014)	107/128	=	x	=	=
Yousif FD et al. (2014)	260/260	↓	↑	↑	↓
Rivzi BZ et al. (2015)	65/65** (olhos)	↓	x	x	x
Briggs et al. (2015)	125/90	↓*	x	x	x
Gupta et al. (2016)	60/60	↓*	=	=	x
Shukla EJ et al. (2016)	50/50	↓ na RDp	x	↑	x
Rao KRS et al. (2016)	104/98	↓*	x	=	=
El-Agamy A. et al. (2017)	57/45	↓	x	↑	↓*
Ahuja et al. (2017)	135/135	↓	x	=	=
↓ redução nos indivíduos diabéticos ↑ aumento nos indivíduos diabéticos = não difere entre diabéticos e não diabéticos x não avaliado		*sem diferenças estatisticamente significativas **não indicam se foi analisado apenas um dos olhos ou ambos			

Concluindo, com base na tabela 3 constata-se que a DCE tende a diminuir com a diabetes. A ACM não permite retirar conclusões pois apenas dois estudos referem a sua análise, sendo os resultados contraditórios. Tal como na ACM, o estudo do CoV não permite inferir conclusões uma vez que o número de estudos que indicam um aumento na DM, o mesmo número de estudos indica que a DM não interfere com este parâmetro. Por último, a HEX na maioria dos estudos não revela alterações com a presença da diabetes.

Capítulo 3 - Metodologia

3.1. Tipologia do estudo

A presente dissertação de Mestrado corresponde a um estudo clínico caso-controlo em que se analisou a morfologia endotelial de indivíduos com DMt2 e se comparou com indivíduos sem diagnóstico de DM. A pesquisa foi desenvolvida entre os meses de setembro de 2017 e maio de 2018 no Centro Clínico e Experimental de Ciências da Visão - CCECV (Covilhã, Portugal).

3.2. Procedimentos

Para a realização deste estudo procedeu-se à sinalização de potenciais voluntários durante o rastreio de RD realizado no *UBIMedical*, sendo que os indivíduos provêm da consulta de diabetologia do ACES da Cova da Beira. De seguida, foram convidados a integrar o estudo e os sujeitos que se voluntariaram a participar foram encaminhados para o CCECV. Além destes, também foram incluídos indivíduos sem DM, pertencentes à mesma faixa etária.

Após a explicação dos procedimentos, quer os diabéticos quer os não diabéticos assinaram um CI (anexo II). Com o intuito de avaliar a integridade visual, procedeu-se a um exame visual que incluía avaliação com lâmpada de fenda, medição da pressão intraocular (PIO) com tonómetro de não contacto e retinografia (figura 4). A avaliação através de biomicroscopia consistiu na observação da conjuntiva tarsal, conjuntiva bulbar e do limbo irido-corneano.

Relativamente à avaliação morfológica do EC foram obtidos os seguintes parâmetros: número de células endoteliais, DCE, ACM, desvio padrão, CoV, área celular mínima, área celular máxima e HEX ou percentagem de células hexagonais (figura 1). Destes parâmetros apenas quatro foram utilizados na análise estatística, nomeadamente, DCE, ACM, CoV e HEX (figura 4). Todos os parâmetros foram adquiridos com recurso ao microscópio especular de não contacto (CEM-530 da NIDEK).

No sentido de tornar a aquisição das imagens relativas aos parâmetros do EC mais rápida, a sua aquisição foi realizada de forma automática. As imagens foram obtidas em três zonas corneais, nomeadamente, zona central, zona paracentral e zona periférica. As três zonas corneais correspondem a quinze posições de fixação (figura 2). Na zona central existe apenas um ponto de fixação na posição central (C), já na zona paracentral existem oito pontos de fixação - 0°, 45°, 90°, 135°, 180°, 225°, 270°, 315° - e na zona periférica apenas seis - superior esquerda (SE), superior central (SC), superior direita (SD), inferior direita (ID), inferior central (IC) e inferior esquerda (IE).

Right

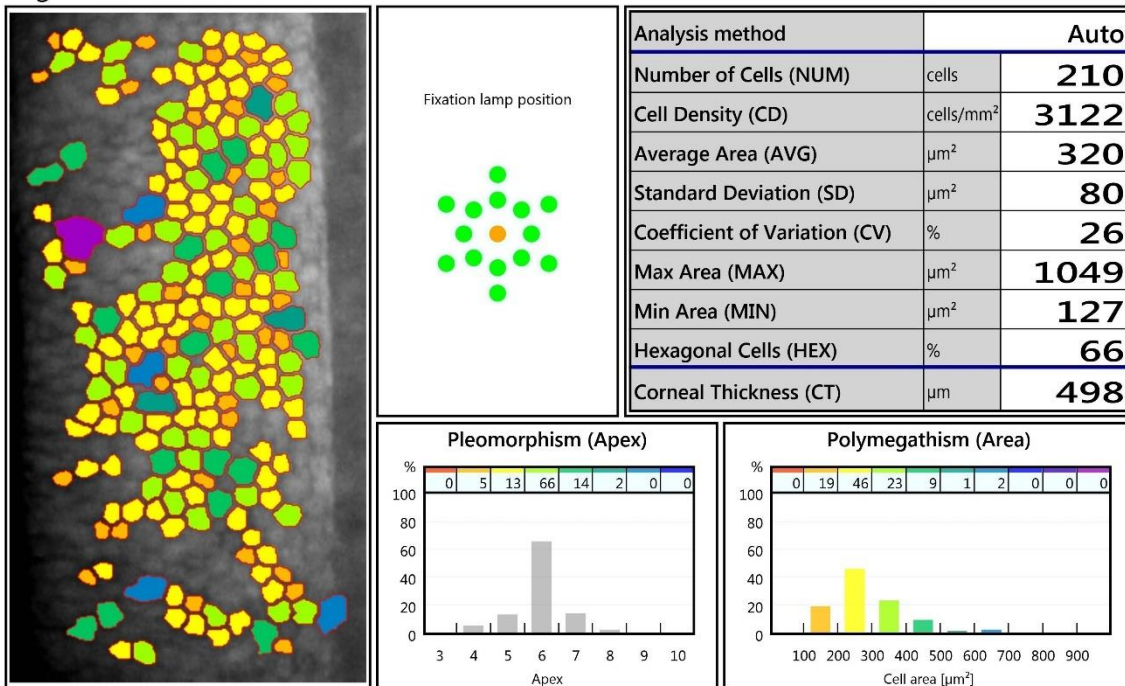


Figura 1. Exemplo de imagem obtida durante a avaliação morfológica do EC (zona central) com parâmetros obtidos através do microscópio endotelial CEM-530 da NIDEK.

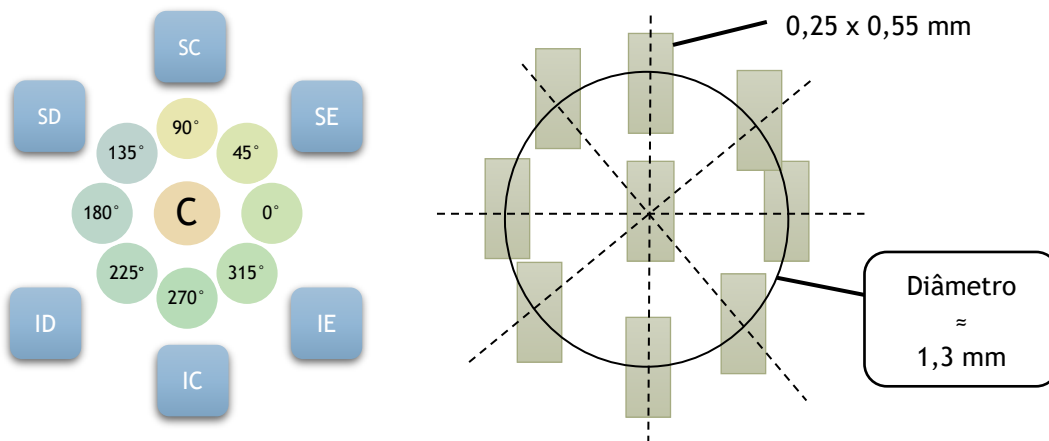


Figura 2. Esquema representativo das quinze posições de fixação (lado esquerdo) e da captura de imagens na zona central e paracentral (lado direito - Adaptação de [44]).

A recolha e o processamento de dados basearam-se nas indicações da Administração da Alimentação e Medicação dos Estados Unidos da América (FDA), representadas na figura 3, sobre microscopia especular do EC. (43)

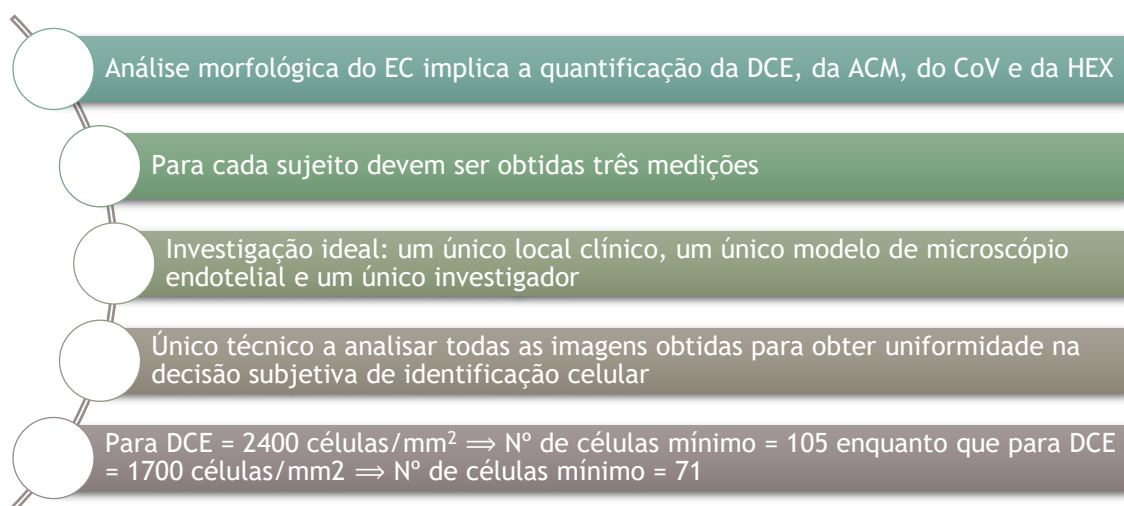


Figura 3. Indicações da FDA para estudos sobre microscopia especular do EC. (43)

Após aplicação das indicações da FDA, os valores das variáveis de estudo das três imagens foram registados na folha de registo elaborada (anexo III) tendo-se determinado a média desses mesmos valores. Além disso, foram avaliadas as imagens endoteliais obtidas e quando necessário realizou-se uma recontagem celular, usando o *software Navis-Ex*. A quantificação dos parâmetros morfológicos ao englobar quinze posições de fixação obtidas três vezes para cada olho equivale a um total de 90 medições por indivíduo.

Por último, é necessário referir que a recontagem celular foi realizada através do método dos cantos que de acordo com a FDA, baseia-se na fotografia do EC e consiste na decisão razoável de definir as bordas da célula usando a magnificação apropriada. (43)

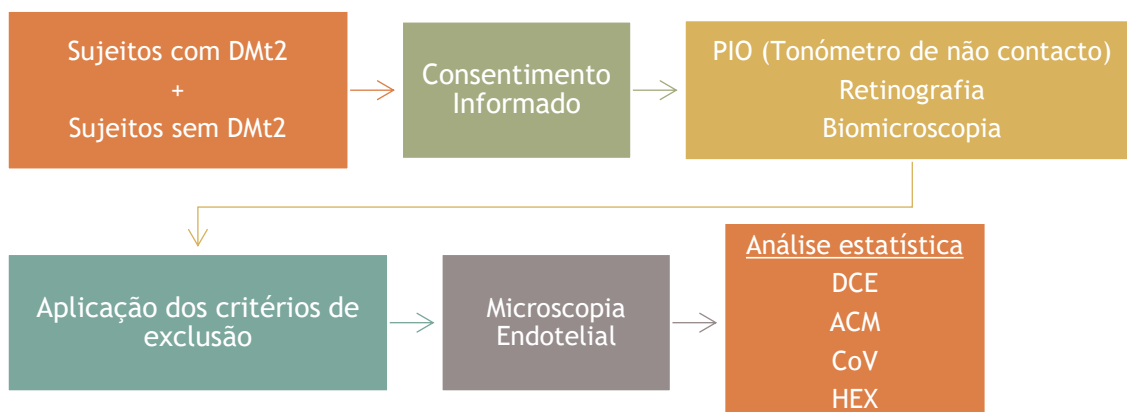


Figura 4. Esquema síntese da metodologia utilizada.

3.3. Critérios de exclusão

Com o intuito de evitar viés nos resultados obtidos devido a alterações morfológicas no EC, foram excluídos do estudo os sujeitos com inflamação/infeção ocular prévia ou atual, utilizadores de LC, que realizaram qualquer tipo de cirurgia intraocular ou refrativa, com glaucoma, com alterações corneais, com artrite reumatoide, com pterígio em que havia invasão corneal e que realizaram sessões de fotocoagulação a laser ou outro tratamento ocular com utilização de laser.

3.4. Fatores de risco

Como referido nos objetivos da investigação no capítulo 1, um dos objetivos do presente estudo consistiu na correlação dos quatro parâmetros endoteliais com fatores de risco, nomeadamente, duração da DM, severidade da RD, percentagem de HbA1c, IMC, HTA e variável sexo. A duração da DM e associação de HTA à DM foram adquiridos através de questionário. Através de análises sanguíneas realizadas previamente, acedeu-se à percentagem de HbA1c quando o seu valor constava nessas mesmas análises. Quanto ao IMC, foi calculado através da altura medida e do peso dos indivíduos. Por último, a severidade da RD foi classificada tendo por base a retinografia obtida, os sinais clínicos e a classificação da ETDRS.

3.5. Metodologia estatística

Inicialmente, para a realização da análise estatística foi criada uma base de dados em Excel, quer para o grupo dos indivíduos diabéticos quer para o grupo dos indivíduos não diabéticos. Nessa base de dados constavam os dados do sujeito, os exames optométricos e os dados da microscopia endotelial.

Posteriormente, foi utilizado o *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) da IBM na versão 23.0 para tratamento estatístico dos dados. Previamente à aplicação dos testes estatísticos de comparação de médias e correlações verificaram-se as condições de normalidade dos valores de todas as variáveis em estudo e ainda a homogeneidade das variâncias. Desta forma, para verificar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov ou o teste de Shapiro-Wilk dependendo do tamanho amostral (n) ser superior ou inferior a 30. Para verificar a homogeneidade de variâncias, utilizou-se o teste Levene. Sempre que os dados de cada variável fossem considerados normais eram aplicados os testes paramétricos correspondentes, caso o suposto de normalidade não se verificasse seriam aplicados testes não paramétricos.

Após aplicação dos testes previamente descritos, em função da normalidade e do número de amostras a comparar foram aplicados os seguintes testes estatísticos: t-test de amostras independentes (distribuição normal e duas amostras independentes) e teste de Man-Whitney U (distribuição não normal e duas amostras independentes).

No sentido de estudar a correlação dos parâmetros morfológicos do EC com os fatores de risco, dependendo da normalidade dos dados a correlacionar, utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson (r) ou Spearman (r_s). Esta análise permitiu também descrever a significância da relação através do valor de p e a intensidade da mesma através do valor do coeficiente usado. Por sua vez, no sentido de correlacionar o olho direito (OD) com o olho esquerdo (OE) foi utilizado o coeficiente de correlação intraclasse (CCI).

Concluindo, para qualquer dos testes estatísticos indicados, o parâmetro de significância estatística (valor de p) era considerado significativo quando inferior a 0,05. Desta forma, o nível de confiança estabelecido na análise estatística foi de 95%.

Além disso, para perceber qual a intensidade da correlação entre medidas teve-se em conta a escala definida por Maria Helena Pestana e João Nunes Gameiro em que a correlação é considerada fraca até 0,30, moderada de 0,30 a 0,70 e forte com valores acima de 0,70. (45)

Capítulo 4 - Resultados

4.1. Caracterização da amostra

Neste estudo participaram 118 pessoas, das quais 14 foram excluídas (3 pessoas pertencentes ao grupo dos indivíduos diabéticos e 11 pertencentes ao grupo dos indivíduos não diabéticos) devido aos critérios de exclusão previamente definidos. Desta forma, a amostra final engloba 104 indivíduos (52 com DMt2 e 52 sem DM). No que diz respeito à idade dos grupos em estudo, a idade dos sujeitos diabéticos varia entre os 55 e os 78 anos de idade ($67,2 \pm 5,3$ anos) enquanto que nos sujeitos não diabéticos entre os 51 e os 80 anos de idade ($64,7 \pm 8,1$ anos). Não existindo diferenças estatisticamente significativas ao nível da idade ($p=0,07$).

Relativamente à distribuição amostral segundo a variável sexo (gráfico 2), no grupo dos indivíduos diabéticos existem 17 indivíduos do sexo feminino (33%) e 35 indivíduos do sexo masculino (67%). Por sua vez, no grupo dos indivíduos não diabéticos existem 29 mulheres (56%) e 23 homens (44%).

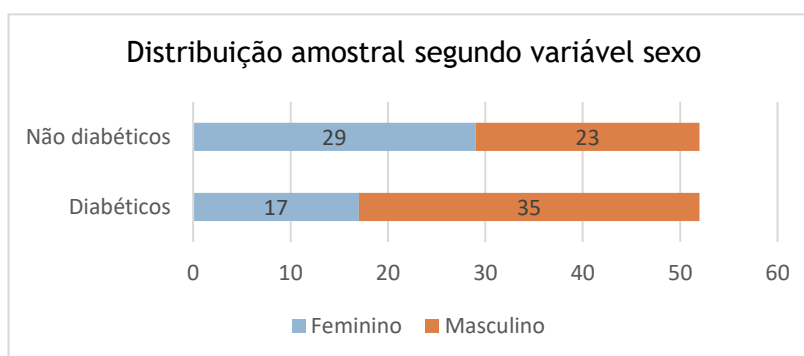


Gráfico 2. Gráfico representativo da distribuição amostral segundo a variável sexo para ambos os grupos em estudo.

No que diz respeito aos indivíduos diabéticos, a tabela 4 mostra a divisão da amostra por fator de risco. Nesta tabela, é possível verificar que apenas 36 diabéticos tinham análises com valor de HbA1c uma vez que os indivíduos não trazem análises como pedido previamente ou as análises não contêm valores de HbA1c. Além disso, é possível observar que existe um maior número de pessoas com DM há menos de 10 anos, sem RD, com HbA1c inferior a 7%, com IMC inferior a 30 kg/m², fumadores e com HTA.

Tabela 4. Tabela representativa da distribuição amostral dos indivíduos diabéticos por fator de risco.

Fatores de risco	Duração DM		Severidade RD		HbA1c		IMC		Hábitos tabágicos		HTA	
	<10A	≥10A	Sem RD	Com RDnp	<7%	≥7%	<30,00	≥30,00	Não	Sim	Não	Sim
Nº diabéticos	31	21	33	19	24	12	33	19	24	28	13	39

4.2. Correlação entre olho direito e olho esquerdo

Previamente à análise morfológica do EC foram correlacionadas as medições obtidas quer para OD quer para o OE de todos os parâmetros morfológicos do EC. Inicialmente para o grupo constituído pelos indivíduos diabéticos e posteriormente para os indivíduos não diabéticos.

É importante salientar que a maioria dos estudos opta por não explorar a correlação entre os olhos preferindo medições monoculares. Além disso, não existe consistência nos procedimentos utilizados para a seleção do olho medido. No entanto, na maioria dos estudos em que apenas um olho é selecionado os critérios de seleção não são descritos ou não são claros. (46)

Desta forma, são diversos os procedimentos estatísticos que estão disponíveis para analisar os dados obtidos de ambos os olhos. A correlação ocular pode ser avaliada usando o CCI que mede a relação entre dados emparelhados do mesmo sujeito, ou seja, OD e OE. Se o valor de CCI estiver próximo de um, então pode ser calculada a média de ambos os olhos ou selecionar um olho aleatoriamente para análise estatística. (46)

Após obter os valores de CCI, quer para os diabéticos quer para os não diabéticos e para todos os parâmetros morfológicos do EC, constata-se que os seus valores são próximos de um (tabela 5). Desta forma, a escolha de um olho aleatoriamente é possível, sendo que o critério de escolha foi o olho direito de cada indivíduo.

Tabela 5. Valores do CCI para ambos os grupos em estudo.

Correlação	Diabéticos	Não diabéticos
DCE_OD * DCE_OE	0,89	0,84
ACM_OD * ACM_OE	0,82	0,88
CoV_OD * CoV_OE	0,85	0,96
HEX_OD * HEX_OE	0,86	0,91

4.3. Morfologia da zona central

Na zona central verifica-se que a média da DCE ($p=0,97$), da ACM ($p=1,00$) e da HEX ($p=0,97$) é semelhante entre indivíduos diabéticos e não diabéticos. Por sua vez, a média do CoV ($p=0,70$) é ligeiramente superior nos indivíduos com diagnóstico de DMt2, não sendo esta diferença estatisticamente significativa. (Tabela 6)

Adicionalmente, verifica-se que nos grupos em estudo a DCE varia entre 2535-2548 células/mm², a ACM entre 400-406 μm^2 , o CoV é aproximadamente 32% e a percentagem de células hexagonais é sensivelmente 67%.

Tabela 6. Valores médios na zona central da DCE, ACM, CoV e HEX nos grupos em estudo.

	Diabéticos	Não diabéticos	valor de <i>p</i>
DCE (células/mm ²)	2548 ± 297	2535 ± 354	0,97
ACM (µm ²)	400 ± 55	406 ± 78	1,00
CoV (%)	32 ± 5	32 ± 4	0,70
HEX (%)	67 ± 4	67 ± 4	0,97

4.4. Morfologia da zona paracentral

Na zona paracentral, primeiro foram analisadas as oito posições individualmente e depois foi calculada a média dessas mesmas posições (global). Após se aplicarem os testes estatísticos correspondentes, verifica-se que quer para as posições individuais quer para a média não existem diferenças estatisticamente significativas entre os indivíduos diabéticos e não diabéticos, para os quatro parâmetros morfológicos analisados. (Tabela 7 a 10)

Em primeiro lugar, na tabela 7 encontram-se representados os valores médios da DCE quer para os indivíduos com DM quer para os indivíduos sem DM. Analisando a tabela, é possível observar que para o grupo dos sujeitos diabéticos o valor médio varia entre 2517-2645 células/mm² enquanto que no grupo de controle varia entre 2516-2590 células/mm² para todas as posições individuais, não havendo diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 7. Valores médios da DCE na zona paracentral nos respetivos grupos em estudo.

	DCE (células/mm ²)		valor de <i>p</i>
	Diabéticos	Não diabéticos	
0°	2567 ± 361	2564 ± 351	0,85
45°	2562 ± 319	2516 ± 353	0,31
90°	2517 ± 336	2522 ± 351	0,95
135°	2557 ± 296	2527 ± 359	0,89
180°	2584 ± 308	2539 ± 382	0,51
225°	2639 ± 278	2571 ± 356	0,28
270°	2627 ± 293	2581 ± 375	0,95
315°	2645 ± 312	2590 ± 351	0,40
Global	2587 ± 299	2551 ± 349	0,76

Na tabela 8 podem observar-se os valores médios da ACM, quer para os diabéticos quer para os não diabéticos, para as diferentes posições de fixação. No grupo dos sujeitos diabéticos o valor médio da ACM varia entre 384-408 µm², já no grupo dos indivíduos não diabéticos varia entre 394-429 µm² nas diferentes posições de fixação, sem diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 8. Valores médios da ACM na zona paracentral nos respetivos grupos em estudo.

	ACM (μm^2)		valor de <i>p</i>
	Diabéticos	Não diabéticos	
0°	401 ± 97	399 ± 65	0,68
45°	400 ± 66	429 ± 160	0,20
90°	408 ± 80	406 ± 64	1,00
135°	397 ± 52	405 ± 67	0,88
180°	395 ± 56	406 ± 85	0,75
225°	384 ± 43	399 ± 72	0,60
270°	387 ± 52	398 ± 70	0,98
315°	384 ± 51	394 ± 59	0,57
Global	395 ± 58	405 ± 67	0,62

Na tabela 9, são mostrados os valores médios do CoV, constatando-se que para as diferentes posições, nos sujeitos diabéticos variam entre 32-33% e no grupo dos não diabéticos entre 31-32%. No entanto, não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos.

Tabela 9. Valores médios do CoV na zona paracentral nos respetivos grupos em estudo.

	CoV (%)		valor de <i>p</i>
	Diabéticos	Não diabéticos	
0°	32 ± 5	32 ± 4	0,92
45°	32 ± 5	32 ± 4	0,93
90°	32 ± 5	32 ± 5	0,97
135°	32 ± 5	31 ± 5	0,53
180°	32 ± 5	31 ± 5	0,98
225°	33 ± 5	32 ± 4	0,47
270°	33 ± 5	32 ± 5	0,84
315°	33 ± 5	32 ± 5	0,86
Global	32 ± 5	32 ± 4	0,83

Por último, encontram-se representados os valores médios referentes à percentagem de células hexagonais (tabela 10). Nesta tabela verifica-se que para as diferentes posições, os valores médios deste parâmetro no grupo dos indivíduos diabéticos correspondem a 67% enquanto que nos indivíduos não diabéticos variam entre 66-68%. Desta forma, não existem diferenças estatisticamente significativas entre diabéticos e não diabéticos.

Tabela 10. Valores médios da HEX na zona paracentral nos respetivos grupos em estudo.

	Hexagonalidade (%)		valor de <i>p</i>
	Diabéticos	Não diabéticos	
0°	67 ± 4	67 ± 4	0,72
45°	67 ± 4	67 ± 4	0,43
90°	67 ± 4	66 ± 4	0,18
135°	67 ± 4	68 ± 4	0,44
180°	67 ± 4	67 ± 4	0,72
225°	67 ± 4	67 ± 3	0,64
270°	67 ± 4	67 ± 4	1,00
315°	67 ± 4	66 ± 4	0,47
Global	67 ± 3	67 ± 3	0,94

De um modo geral, apesar de não haver diferenças estatísticas significativas entre o grupo dos diabéticos e o grupo dos não diabéticos, é possível observar nos sujeitos diabéticos um ligeiro aumento da DCE (global: 2587 ± 299 vs 2551 ± 349 em que $p=0,78$) e do CoV (global: 32 ± 5 vs 32 ± 4 ; em que $p=0,83$). Inversamente à DCE e ao CoV, a ACM nos diabéticos tende a ser menor (global: 395 ± 58 vs 405 ± 67 ; em que $p=0,62$). Por último, a HEX apresenta valores semelhantes entre os grupos em estudo (global: 67 ± 3 para ambos os grupos em estudo; em que $p=0,94$).

4.5. Morfologia da zona periférica

Na zona periférica optou-se pela mesma abordagem que na zona paracentral, em que inicialmente foram analisados os seis pontos de fixação de forma individual e posteriormente a média dessas mesmas posições (global). Aplicando os testes estatísticos correspondentes, os valores médios da DCE, da ACM, do CoV e da HEX não diferem entre diabéticos e não diabéticos quer individualmente quer de um modo global. (Tabela 11 a 14)

É importante salientar que nesta zona como os pontos de fixação são mais exteriores que os previamente avaliados e como a frequência de ptoses é maior, é expectável que haja um decréscimo do número de olhos analisados. Desta forma, num dos controles não foi possível obter qualquer medição sendo que o número máximo de olhos analisados nos indivíduos diabéticos é de 52 enquanto que nos sujeitos não diabéticos é de 51.

Os valores médios referentes à DCE estão representados na tabela 11, observando essa mesma tabela verifica-se que para o grupo dos indivíduos diabéticos variam entre 2685-2902 células/mm² enquanto que no grupo dos indivíduos não diabéticos variam entre 2622-2761 células/mm². No entanto, não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos.

Tabela 11. Valores médios da DCE na zona periférica nos respetivos grupos em estudo.

	DCE (células/mm ²)		valor de p
	Diabéticos	Não diabéticos	
SE	2776 ± 301	2679 ± 369	0,66
SC	2685 ± 407	2622 ± 384	0,54
SD	2728 ± 316	2677 ± 383	0,50
ID	2768 ± 281	2670 ± 365	0,10
IC	2902 ± 300	2761 ± 360	0,06
IE	2827 ± 276	2717 ± 366	0,38
Global	2744 ± 332	2690 ± 322	0,41

Na tabela 12 apresentam-se os valores médios referentes à ACM para o grupo dos sujeitos diabéticos e para o grupo dos indivíduos não diabéticos nas diferentes posições. Observando esta tabela, apesar não surgirem diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos,

verifica-se que os seus valores médios no grupo dos diabéticos variam entre 349-386 μm^2 e no grupo dos não diabéticos entre 369-393 μm^2 .

Tabela 12. Valores médios da ACM na zona periférica nos respetivos grupos em estudo.

	ACM (μm^2)		valor de <i>p</i>
	Diabéticos	Não diabéticos	
SE	365 ± 41	383 ± 61	0,47
SC	386 ± 95	393 ± 79	0,51
SD	372 ± 45	386 ± 77	0,71
ID	366 ± 38	383 ± 62	0,26
IC	349 ± 36	369 ± 50	0,04
IE	358 ± 35	378 ± 66	0,29
Global	376 ± 67	380 ± 55	0,42

De seguida, na tabela 13 são apresentados os valores médios do CoV para os diabéticos e não diabéticos como também para as diferentes posições de fixação. Nesta tabela verifica-se que os valores médios do CoV no grupo dos indivíduos diabéticos variam entre 33-36% enquanto que no grupo dos indivíduos não diabéticos variam entre 32-34%. Não sendo verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de estudo.

Tabela 13. Valores médios do CoV na zona periférica nos respetivos grupos em estudo.

	CoV (%)		valor de <i>p</i>
	Diabéticos	Não diabéticos	
SE	34 ± 5	33 ± 5	0,88
SC	34 ± 5	33 ± 4	0,34
SD	33 ± 4	32 ± 4	0,37
ID	34 ± 5	33 ± 4	0,61
IC	36 ± 6	34 ± 6	0,65
IE	34 ± 6	34 ± 5	0,98
Global	34 ± 5	34 ± 4	0,65

Por último, na tabela 14 com os valores médios da hexagonalidade nos indivíduos diabéticos e nos controles é possível observar que para ambos os grupos em estudo os seus valores variam entre 63-66%. Não surgindo valores de *p* indicadores de diferenças estatisticamente significativas entre diabéticos e não diabéticos.

Tabela 14. Valores médios da HEX na zona periférica nos respetivos grupos em estudo.

	Hexagonalidade (%)		valor de <i>p</i>
	Diabéticos	Não diabéticos	
SE	65 ± 4	65 ± 5	0,65
SC	63 ± 5	65 ± 4	0,41
SD	66 ± 4	66 ± 4	0,55
ID	65 ± 5	65 ± 5	0,46
IC	63 ± 4	63 ± 5	0,68
IE	66 ± 5	65 ± 4	0,97
Global	64 ± 3	64 ± 3	0,73

De um modo geral, apesar de não haver diferenças estatísticas significativas entre diabéticos e não diabéticos, tal como na zona central e paracentral, é possível observar que nos sujeitos diabéticos há um aumento da DCE (global: 2744 ± 332 vs 2690 ± 322 em que $p=0,41$) e do CoV (global: 34 ± 5 vs 34 ± 4 em que $p=0,65$). Por sua vez, na ACM verifica-se que nos indivíduos diabéticos o seu valor médio tende a ser menor comparativamente com os indivíduos não diabéticos (global: 376 ± 67 vs 380 ± 55 em que $p=0,42$). Por último, os valores médios da HEX (tabela 14) são praticamente iguais nos diabéticos e não diabéticos (global: 64 ± 3 vs 64 ± 3 em que $p=0,73$).

4.6. Correlação com fatores de risco

Nesta secção são apresentadas duas tabelas para cada zona analisada, a primeira tabela corresponde à correlação dos diferentes fatores de risco com a DCE, a ACM, o CoV e a HEX sendo indicados os respetivos valores de r e valores de p . A segunda tabela, corresponde aos valores médios resultantes da divisão dos fatores de risco e respetivos valores de p .

Relativamente ao diagnóstico da DM, foram divididos em diabéticos diagnosticados há menos de 10 anos e diabéticos diagnosticados há 10 anos ou mais. Quanto à severidade da RD só foi possível considerar dois grupos (sem RD e com RDnp) visto não haver indivíduos com RDp. Por sua vez, o nível de HbA1c foi dividido em indivíduos que apresentam valores inferiores a 7% e valores iguais ou superiores a essa mesma percentagem.

Com base na separação da OMS, o IMC foi dividido em 2 grupos: não obesos ($IMC < 30 \text{ kg/m}^2$) e obesos ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). No que diz respeito à HTA, foram divididos em indivíduos que são hipertensos e que não têm esta patologia associada a DM. Por último, foram ainda agrupados em mulheres e homens.

4.6.1. Correlação com parâmetros morfológicos da zona central

Para a zona central (tabela 15) verifica-se que existe uma correlação negativa fraca da DCE com a duração da DM ($r_s = -0,26$), a percentagem de HbA1c ($r = -0,12$), o IMC ($r_s = -0,07$) e a presença de HTA ($r_s = -0,12$). Por sua vez, com a severidade da RD ($r_s = 0,09$), com os hábitos tabágicos ($r_s = 0,08$) e com a variável sexo ($r_s = 0,20$) existe uma correlação positiva também fraca. No entanto, nenhuma das correlações é estatisticamente significativa.

Quanto à ACM, esta correlaciona-se positivamente com a duração da DM ($r_s = 0,27$), com a percentagem de HbA1c ($r_s < 0,01$), com o IMC ($r_s = 0,07$) e com a presença de HTA ($r_s = 0,12$). Pelo contrário, correlaciona-se negativamente com a severidade da RD ($r_s = -0,08$), com os hábitos tabágicos ($r_s = -0,07$) e com a variável sexo ($r_s = -0,20$). Tal como na DCE, nenhuma das correlações é estatisticamente significativa e todas são correlações fracas.

Relativamente ao CoV (tabela 15), este correlaciona-se negativamente (correlação fraca) apenas com a duração da DM ($r_s = -0,16$). Por conseguinte, existe uma correlação positiva fraca desse mesmo parâmetro com a severidade da RD ($r_s = 0,07$), com a percentagem de HbA1c ($r_s=0,02$), com o IMC ($r = 0,17$), com os hábitos tabágicos ($r_s = 0,03$), com a presença de HTA ($r_s=0,04$) e com a variável sexo ($r_s = 0,13$). No entanto, estas correlações não são estatisticamente significativas.

Na última coluna referente à HEX (tabela 15) conclui-se que a duração da DM ($r_s = 0,13$), a percentagem de HbA1c ($r = 0,03$) e os hábitos tabágicos ($r_s = 0,10$) se correlacionam positivamente com este parâmetro. Os restantes fatores de risco como a severidade da RD ($r_s=-0,05$), o IMC ($r = -0,04$), a presença de HTA ($r_s = -0,08$) e a variável sexo ($r_s = -0,03$) correlacionam-se negativamente com a percentagem de células hexagonais. Tal como nos parâmetros anteriores, estas correlações não são estatisticamente significativas e também são correlações fracas.

Tabela 15. Correlação dos fatores de risco com os parâmetros do EC na zona central.

			Parâmetros analisados			
			DCE	ACM	CoV	HEX
FATORES DE RISCO	Duração da DM	Valor de r	$r_s = -0,26$	$r_s = 0,27$	$r_s = -0,16$	$r_s = 0,13$
		Valor de p	0,06	0,06	0,25	0,37
	Severidade da RD	Valor de r	$r_s = 0,09$	$r_s = -0,08$	$r_s = 0,07$	$r_s = -0,05$
		Valor de p	0,53	0,58	0,63	0,74
	HbA1c	Valor de r	$r = -0,12$	$r_s < 0,01$	$r_s = 0,02$	$r = 0,03$
		Valor de p	0,49	0,99	0,90	0,87
	IMC	Valor de r	$r_s = -0,07$	$r_s = 0,07$	$r = 0,17$	$r = -0,04$
		Valor de p	0,60	0,61	0,23	0,77
	Hábitos tabágicos	Valor de r	$r_s = 0,08$	$r_s = -0,07$	$r_s = 0,03$	$r_s = 0,10$
		Valor de p	0,60	0,63	0,84	0,47
	HTA	Valor de r	$r_s = -0,12$	$r_s = 0,12$	$r_s = 0,04$	$r_s = -0,08$
		Valor de p	0,41	0,39	0,77	0,55
	Sexo	Valor de r	$r_s = 0,20$	$r_s = -0,20$	$r_s = 0,13$	$r_s = -0,03$
		Valor de p	0,15	0,16	0,37	0,83

Observando os valores de p , representados na tabela 16, verifica-se que não existem diferenças significativas entre os diferentes grupos dos fatores de risco. No entanto, quer os diabéticos há pelo menos 10 anos quer os indivíduos com valores de HbA1c superiores ou igual a 7% apresentam um decréscimo da DCE e um aumento da ACM. Por sua vez, no que se refere ao CoV e à HEX a percentagem de HbA1c não interfere com os seus valores, já a presença da DM há pelo menos 10 anos diminui o CoV e aumenta a hexagonalidade.

Em oposição ao grupo dos diabéticos com a patologia há pelo menos 10 anos, indivíduos com RDnp e do sexo masculino apresentam um aumento da DCE e do CoV enquanto que na ACM e na HEX surge um decréscimo comparativamente com os indivíduos sem RD e do sexo feminino.

Os indivíduos com IMC superior ou igual a 30 kg/m² e indivíduos com HTA associada à diabetes apresentam uma redução da DCE e um aumento quer da ACM quer do CoV. No que diz respeito à HEX, nos indivíduos hipertensos tende a ser ligeiramente menor, já nos indivíduos considerados obesos não altera.

Por último, nos indivíduos com hábitos tabágicos, os valores de DCE e HEX são superiores enquanto que os da ACM são menores comparativamente com os indivíduos não fumadores. Por sua vez, o CoV não varia com os hábitos tabágicos.

Tabela 16. Valores médios, na zona central, dos parâmetros morfológicos do EC por cada grupo dos fatores de risco.

FATORES DE RISCO		Parâmetros analisados			
		DCE	ACM	CoV	HEX
Duração da DM	< 10 anos	2591 ± 322	394 ± 61	33 ± 5	66 ± 5
	≥ 10 anos	2484 ± 251	407 ± 45	32 ± 5	67 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,12	0,12	0,47	0,36
Severidade da RD	Sem RD	2513 ± 355	408 ± 67	32 ± 5	67 ± 4
	Com RDnp	2607 ± 141	385 ± 21	33 ± 5	66 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,19	0,58	0,63	0,69
HbA1c	< 7 %	2589 ± 234	390 ± 38	32 ± 6	67 ± 4
	≥ 7%	2561 ± 298	396 ± 48	32 ± 5	66 ± 5
	Valor de <i>p</i>	0,76	0,86	1,00	0,80
IMC	< 30,00	2562 ± 269	395 ± 49	32 ± 4	67 ± 5
	≥ 30,00	2522 ± 347	407 ± 66	33 ± 6	67 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,64	0,47	0,48	0,99
Hábitos tabágicos	Não	2516 ± 351	408 ± 69	33 ± 5	66 ± 5
	Sim	2574 ± 246	392 ± 41	32 ± 5	67 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,49	0,62	0,84	0,50
HTA	Não	2629 ± 304	386 ± 48	32 ± 5	67 ± 4
	Sim	2520 ± 294	404 ± 57	33 ± 5	67 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,40	0,39	0,77	0,59
Sexo	Feminino	2487 ± 235	406 ± 42	32 ± 6	67 ± 5
	Masculino	2577 ± 322	396 ± 61	33 ± 5	67 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,32	0,15	0,57	0,63

4.6.2. Correlação com parâmetros morfológicos da zona paracentral

A DCE correlaciona-se negativamente com a duração da DM ($r_s = -0,17$), com o nível da HbA1c ($r = -0,05$), com o IMC ($r = -0,09$) e com a presença de HTA ($r_s = -0,06$). Por sua vez, correlaciona-se positivamente com a severidade da RD ($r_s = 0,13$), com o tabagismo ($r_s = 0,05$) e com a variável sexo ($r_s = 0,16$). No entanto, nenhuma destas correlações é estatisticamente significativa e todas as correlações são fracas (tabela 17).

A ACM correlaciona-se positivamente com a duração da DM ($r_s = 0,18$), com o nível de HbA1c ($r_s = 0,08$), com o IMC ($r = 0,07$) e com a HTA ($r_s = 0,11$), enquanto que se correlaciona negativamente com a severidade da RD ($r_s = -0,14$), com os hábitos tabágicos ($r_s = -0,06$) e com a variável sexo ($r_s = -0,17$), não sendo apresentadas correlações estatisticamente significativas. Além disso, todas as correlações apresentadas são correlações fracas (tabela 17).

O CoV apresenta uma correlação negativa fraca com a duração da DM ($r_s = -0,02$), com a severidade da RD ($r_s = -0,02$) e com o tabagismo ($r_s = -0,01$), enquanto que com a percentagem de HbA1c ($r_s < 0,01$), com o IMC ($r = 0,02$), com a HTA ($r_s = 0,08$) e com a variável sexo ($r_s = 0,08$) tem uma correlação positiva fraca. Nenhuma destas correlações é estatisticamente significativa (tabela 17).

Por último, a HEX correlaciona-se positivamente com a duração da DM ($r_s = 0,06$), com o IMC ($r = 0,11$) e com os hábitos tabágicos ($r_s = 0,07$). Por sua vez, correlaciona-se negativamente com a severidade da RD ($r_s = -0,03$), com o nível de HbA1c ($r = -0,01$) e com a variável sexo ($r_s = -0,16$). A correlação da HEX com a presença de HTA é praticamente inexistente ($r_s \approx 0$). Tal como nos outros parâmetros, estas correlações não são significativas e todas elas são correlações fracas (tabela 17).

Tabela 17. Correlação dos fatores de risco com os parâmetros do EC na zona paracentral.

		Parâmetros analisados				
		DCE	ACM	CoV	HEX	
FATORES DE RISCO	Duração da DM	Valor de r	$r_s = -0,17$	$r_s = 0,18$	$r_s = -0,02$	$r_s = 0,06$
		Valor de p	0,24	0,19	0,87	0,67
	Severidade da RD	Valor de r	$r_s = 0,13$	$r_s = -0,14$	$r_s = -0,02$	$r_s = -0,03$
		Valor de p	0,36	0,33	0,87	0,86
	HbA1c	Valor de r	$r = -0,05$	$r = 0,08$	$r_s < 0,01$	$r = -0,01$
		Valor de p	0,78	0,65	1,00	0,95
	IMC	Valor de r	$r = -0,09$	$r_s = 0,07$	$r = 0,02$	$r = 0,11$
		Valor de p	0,52	0,61	0,90	0,44
	Hábitos tabágicos	Valor de r	$r_s = 0,05$	$r_s = -0,06$	$r_s = -0,01$	$r_s = 0,07$
		Valor de p	0,70	0,68	0,93	0,61
	HTA	Valor de r	$r_s = -0,06$	$r_s = 0,11$	$r_s = 0,08$	$r_s \approx 0$
		Valor de p	0,67	0,42	0,55	0,99
	Sexo	Valor de r	$r_s = 0,16$	$r_s = -0,17$	$r_s = 0,08$	$r_s = -0,16$
		Valor de p	0,27	0,24	0,56	0,26

Tabela 18. Valores médios, na zona paracentral, dos parâmetros morfológicos do EC por cada grupo dos fatores de risco.

FATORES DE RISCO		Parâmetros analisados			
		DCE	ACM	CoV	HEX
Duração da DM	< 10 anos	2624 ± 320	391 ± 65	32 ± 4	67 ± 4
	≥ 10 anos	2533 ± 263	400 ± 47	32 ± 5	67 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,29	0,44	0,86	0,45
Severidade da RD	Sem RD	2548 ± 359	404 ± 70	32 ± 4	67 ± 3
	Com RDnp	2655 ± 131	378 ± 19	32 ± 5	67 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,13	0,33	0,85	0,90
HbA1c	< 7 %	2614 ± 236	386 ± 39	32 ± 5	68 ± 3
	≥ 7%	2641 ± 293	384 ± 43	32 ± 5	67 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,77	0,88	0,83	0,99
IMC	< 30,00	2597 ± 287	392 ± 57	32 ± 5	67 ± 3
	≥ 30,00	2571 ± 327	398 ± 62	32 ± 5	67 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,77	0,90	0,89	0,85
Hábitos tabágicos	Não	2560 ± 353	404 ± 74	32 ± 5	66 ± 4
	Sim	2611 ± 249	387 ± 40	32 ± 4	67 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,54	0,67	0,93	0,50
HTA	Não	2654 ± 308	381 ± 49	32 ± 4	67 ± 4
	Sim	2565 ± 297	399 ± 61	32 ± 5	67 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,67	0,55	0,54	0,70
Sexo	Feminino	2543 ± 231	398 ± 41	32 ± 4	68 ± 4
	Masculino	2608 ± 328	393 ± 65	32 ± 5	66 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,47	0,24	0,52	0,27

Na tabela 18, apesar dos diferentes valores de *p* não serem estatisticamente significativos, constata-se que os indivíduos diabéticos há pelo menos 10 anos e hipertensos apresentam valores médios de DCE menores comparativamente com os diabéticos há menos de 10 anos e com os indivíduos não hipertensos. A ACM e a HEX, nestes dois grupos, têm valores médios superiores aos valores médios verificados nos diabéticos há menos de 10 anos e nos indivíduos não hipertensos. Por último, o CoV não difere com a duração da patologia, mas é maior nos diabéticos que são hipertensos.

Por sua vez, é possível observar que o valor de HbA1c e o valor do IMC não interferem com o valor da ACM e da HEX. No entanto, os valores médios da DCE e do CoV diferem entre si, pois os indivíduos com valores de HbA1c superiores ou igual a 7% apresentam valores médios de DCE superiores e valores médios do CoV ligeiramente inferiores comparativamente com os indivíduos com percentagem de HbA1c inferior a 7%. Por sua vez, os indivíduos com valores de IMC superior ou igual a 30 kg/m² apresentam uma ligeira redução da DCE, não sendo o valor do CoV afetado por este fator de risco.

Os indivíduos com RDnp apresentam valores de DCE e de CoV superiores enquanto que a ACM tende a ser menor comparativamente com os indivíduos sem RD. No que diz respeito à HEX, a severidade da RD não interfere com os seus valores.

Por último, os diabéticos que são fumadores e do sexo masculino apresentam resultados convergentes no que diz respeito à DCE e à ACM, pois a DCE aumenta, enquanto que a ACM diminui. Relativamente ao CoV e à HEX, os resultados são contrários, enquanto que nos fumadores o CoV é menor e a HEX é ligeiramente superior, nos diabéticos do sexo masculino o CoV tende a ser maior e a HEX menor.

4.6.3. Correlação com parâmetros morfológicos da zona periférica

Na coluna referente à DCE (tabela 19), este parâmetro correlaciona-se positivamente com a severidade da RD ($r_s = 0,13$), com a percentagem de HbA1c ($r = 0,02$) e com a variável sexo ($r_s=0,07$). No que diz respeito à duração da DM ($r_s = -0,12$), ao IMC ($r = -0,01$), aos hábitos tabágicos ($r_s = -0,13$) e à presença de HTA ($r_s = -0,15$) existe uma correlação negativa com este mesmo parâmetro do EC. Todas as correlações acima descritas não são estatisticamente significativas e são todas correlações fracas.

A ACM correlaciona-se positivamente com a duração da DM ($r_s= 0,12$), com o IMC ($r_s = 0,05$), com os hábitos tabágicos ($r_s= 0,13$) e com a HTA ($r_s= 0,15$) enquanto que com a severidade da RD ($r_s= -0,12$), com a percentagem de HbA1c ($r= -0,01$) e com a variável sexo ($r_s= -0,07$) se correlaciona negativamente. No entanto, nenhuma das correlações tem significância estatística e todas são correlações fracas. (Tabela 19)

No caso do CoV, existe uma correlação positiva fraca com a HTA ($r_s = 0,02$) e com a variável sexo ($r_s = 0,12$) enquanto que com a duração da DM ($r_s = -0,05$), severidade da RD ($r_s = -0,06$), percentagem de HbA1c ($r_s = -0,05$), com o IMC ($r_s = -0,10$) e com os hábitos tabágicos ($r_s = -0,04$) se correlaciona negativamente, tal como nos fatores de risco anteriores as correlações são fracas. Não se verificando correlações estatisticamente significativas (tabela 19).

Por último, a HEX (tabela 19) correlaciona-se positivamente com a duração da DM ($r_s = 0,01$), com a severidade da RD ($r_s = 0,02$), com a percentagem da HbA1c ($r = 0,04$), com o IMC ($r=0,03$), com os hábitos tabágicos ($r_s = 0,11$) e com a HTA ($r_s = 0,12$). Apenas com a variável sexo dos indivíduos diabéticos ($r_s = -0,11$) se correlaciona negativamente. Tal como nos parâmetros anteriores, não existe nenhuma correlação com significância estatística e todas são correlações fracas.

Tabela 19. Correlação dos fatores de risco com os parâmetros do EC na zona periférica.

			Parâmetros analisados			
			DCE	ACM	CoV	HEX
FATORES DE RISCO	Duração da DM	Valor de r	$r_s = -0,12$	$r_s = 0,12$	$r_s = -0,05$	$r_s = 0,01$
		Valor de p	0,40	0,40	0,70	0,94
	Severidade da RD	Valor de r	$r_s = 0,13$	$r_s = -0,12$	$r_s = -0,06$	$r_s = 0,02$
		Valor de p	0,35	0,40	0,65	0,90
	HbA1c	Valor de r	$r = 0,02$	$r = -0,01$	$r_s = -0,05$	$r = 0,04$
		Valor de p	0,91	0,97	0,79	0,82
	IMC	Valor de r	$r = -0,01$	$r_s = 0,05$	$r_s = -0,10$	$r = 0,03$
		Valor de p	0,95	0,72	0,46	0,86
	Hábitos tabágicos	Valor de r	$r_s = -0,13$	$r_s = 0,13$	$r_s = -0,04$	$r_s = 0,11$
		Valor de p	0,36	0,37	0,76	0,45
	HTA	Valor de r	$r_s = -0,15$	$r_s = 0,15$	$r_s = 0,02$	$r_s = 0,12$
		Valor de p	0,28	0,28	0,87	0,38
	Sexo	Valor de r	$r_s = 0,07$	$r_s = -0,07$	$r_s = 0,12$	$r_s = -0,11$
		Valor de p	0,64	0,62	0,41	0,44

Analisando a tabela 20, concluiu-se que apesar de não surgirem diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes grupos, quer os sujeitos diabéticos há pelo menos 10 anos quer os diabéticos com HTA têm valores médios de DCE e de CoV menores enquanto que os valores médios de ACM e HEX são superiores comparativamente com os sujeitos diabéticos há menos de 10 anos e que não são hipertensos. Por sua vez, os diabéticos fumadores têm resultados semelhantes no que diz respeito à DCE, ao CoV e à HEX, mas apresentam valores médios de ACM inferiores comparativamente com os não fumadores.

Os indivíduos diabéticos com RDnp, com HbA1c superior ou igual a 7% e considerados obesos convergem no que diz respeito à DCE e à ACM sendo que os seus valores médios da DCE são superiores enquanto que da ACM são inferiores comparativamente aos grupos opostos. No CoV e na HEX as conclusões divergem, enquanto que nos diabéticos com HbA1c superior ou igual a 7% e com o IMC superior ou igual a 30 kg/m² o CoV é semelhante ao dos indivíduos com valores de HbA1c inferiores a 7% e não obesos, nos diabéticos com RDnp o valor médio do CoV tende a ser menor. Relativamente à HEX, nos diabéticos com RDnp e com valores de HbA1c de pelo

menos 7% os seus valores médios tendem a ser semelhantes aos grupos dos diabéticos sem RD e com bom controlo glicémico. Por sua vez, os diabéticos obesos tendem a apresentar valores médios de HEX ligeiramente superiores. (Tabela 20)

Por último, nos indivíduos do sexo masculino os valores médios de DCE e do CoV tendem a ser superiores e os de ACM e HEX inferiores, comparativamente com os diabéticos do sexo feminino (tabela 20).

Tabela 20. Valores médios, na zona periférica, dos parâmetros morfológicos do EC por cada grupo dos fatores de risco.

FATORES DE RISCO		Parâmetros analisados			
		DCE	ACM	CoV	HEX
Duração da DM	< 10 anos	2775 ± 350	372 ± 68	35 ± 5	64 ± 3
	≥ 10 anos	2697 ± 307	382 ± 67	34 ± 4	65 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,53	0,53	0,40	0,47
Severidade da RD	Sem RD	2706 ± 392	385 ± 81,	35 ± 5	64 ± 3
	Com RDnp	2809 ± 179	359 ± 23	34 ± 5	64 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,20	0,40	0,65	0,98
HbA1c	< 7 %	2796 ± 245	362 ± 34	34 ± 5	64 ± 3
	≥ 7%	2841 ± 240	357 ± 30	34 ± 5	64 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,61	0,65	0,91	0,86
IMC	< 30,00	2737 ± 353	379 ± 76,15	34 ± 5	64 ± 3
	≥ 30,00	2755 ± 302	371 ± 49	35 ± 5	64 ± 4
	Valor de <i>p</i>	0,85	0,98	0,91	0,68
Hábitos tabágicos	Não	2762 ± 363	376 ± 76	35 ± 5	64 ± 3
	Sim	2727 ± 310	376 ± 60	34 ± 4	65 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,71	0,37	0,87	0,36
HTA	Não	2819 ± 306	361 ± 43	35 ± 4	63 ± 3
	Sim	2718 ± 341	381 ± 73	34 ± 5	64 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,35	0,28	0,85	0,36
Sexo	Feminino	2713 ± 259	376 ± 46	34 ± 5	65 ± 3
	Masculino	2758 ± 365	376 ± 76	35 ± 5	64 ± 3
	Valor de <i>p</i>	0,65	0,62	0,40	0,49

Concluindo, apesar de não surgirem diferenças significativas entre os grupos dos fatores de risco observa-se que na zona central há tendência mínima para a DCE ser menor em sujeitos diabéticos com DM há pelo menos 10 anos, com valores de HbA1c superiores ou iguais a 7%, com IMC superior ou igual a 30 kg/m² e em sujeitos hipertensos. Nestes mesmos grupos, a ACM tende a ser superior. O CoV tende a ser menor em diabéticos há pelo menos 10 anos, hipertensos e do sexo masculino. A HEX tende a ser menor no grupo de diabéticos com RDnp, hipertensos e do sexo masculino.

Na zona paracentral, a DCE tende a ser maior em diabéticos com RDnp, com valores de HbA1c superiores ou iguais a 7%, fumadores e do sexo masculino. A ACM tende a ser menor no grupo de diabéticos com RDnp, fumadores e do sexo masculino. O CoV tende a ser maior em indivíduos com RDnp, com IMC superior ou igual a 30 kg/m², hipertensos e do sexo masculino. A HEX não difere com a severidade da RD, com a percentagem de HbA1c e com o valor de IMC.

Na zona periférica, a DCE tende a ser maior na RDnp, em diabéticos com valores de HbA1c superiores ou igual a 7%, com valores de IMC superiores ou iguais a 30 kg/m² e indivíduos do sexo masculino. A ACM apenas em indivíduos com diabetes há pelo menos 10 anos e hipertensos tende a ser menor. O CoV tende a ser menor no grupo de diabéticos há pelo menos 10 anos, com RDnp, fumadores e hipertensos. A HEX tende a ser maior nos grupos anteriormente indicados exceto em diabéticos com RDnp. Além disso, em indivíduos cujo IMC é superior ou igual a 30 kg/m² também tende a ser maior.

Capítulo 5 - Discussão

Apresentados os resultados obtidos nesta investigação, é efetuada uma análise crítica desses mesmos resultados. Destacam-se assim os resultados obtidos, os objetivos que foram propostos e ainda a comparação com outros estudos na mesma área de investigação.

Começando pela amostra deste estudo, é possível constatar que no grupo dos diabéticos existe um maior número de indivíduos do sexo masculino com DM comparativamente com indivíduos do sexo feminino. Contrariamente ao que é relatado, neste estudo a maioria dos diabéticos participantes apresentam um valor de IMC inferior a 30,00 kg/m² cujo indivíduo não é considerado obeso. (15)

No que diz respeito à análise morfológica do EC na zona central, apesar de não haver diferenças significativas entre diabéticos e não diabéticos para todos os parâmetros analisados verifica-se que nos diabéticos o CoV tende a ser ligeiramente superior enquanto que a DCE, a ACM e a HEX não diferem entre os dois grupos em estudo.

Os resultados obtidos para a DCE na zona central apenas estão concordantes com os resultados obtidos por Allan Storr-Paulsen e por László Módis, et al., pois consideram que este parâmetro não é afetado pela DM. (38,42)

A ACM é um parâmetro morfológico do EC que não é frequentemente estudado. De todos os artigos a que foi possível aceder apenas Manisha Gupta, László Módis, Yousif Dawood e Radha Shenoy, et al., avaliaram a ACM. (30,39,42,47)

Apenas Manisha Gupta e László Módis et al., consideram que não há diferenças na área média das células do EC entre diabéticos e controles estando de acordo com os resultados da presente investigação. (30,42)

O CoV na zona central apresenta um valor médio maior nos diabéticos comparativamente com os sujeitos não diabéticos que não é estatisticamente significativo. A grande maioria dos autores verificam que a DM não induz alterações neste mesmo parâmetro do EC. (30,32,34,36,38,42)

Por último, os resultados relativos à zona central demonstram que a percentagem de células hexagonais não se encontra alterada com a diabetes o que coincide com os resultados obtidos pela maioria dos investigadores. (32,34-36,38)

Contrariamente aos resultados obtidos na zona central, surgem alguns estudos anteriormente realizados em diabéticos e na mesma área de investigação cujas conclusões obtidas para os parâmetros morfológicos diferem da presente investigação.

Na quantificação da DCE, a maioria dos investigadores constata que na DM há um decréscimo deste parâmetro morfológico do EC. (30-34,36,39-41,47)

De acordo com Yousif Dawood e com Radha Shenoy et al., o valor médio da ACM é maior nos sujeitos com DM. (39,47) No entanto, esta diferença pode ser explicada pelo facto de ambos os estudos apresentarem uma amostra cuja dimensão é superior à do presente estudo. Além disso, no estudo de Radha Shenoy et al., são incluídos diabéticos com DMt1 e DMt2 não havendo separação dos resultados obtidos. (47)

Relativamente ao CoV, são diversos os autores que chegam à conclusão de que os diabéticos apresentam um aumento deste parâmetro. (31,33,35,39,47)

Por último, nos trabalhos de Amira El-Agamy, de Yousif Dawood et al., a hexagonalidade está diminuída na presença de DM. (33,39) No entanto, Amira El-Agamy et al., não consideram esse decréscimo estatisticamente significativo. (33) Apenas Radha Shenoy et al., consideram que a HEX nos diabéticos é maior que nos indivíduos não diabéticos. (47)

As diferenças nas conclusões destes estudos previamente definidos podem ser explicadas por diversas modificações ao nível da metodologia, instrumentação utilizada, e/ou das características da amostra.

Em primeiro lugar, as diferenças verificadas ao nível da metodologia englobam: a análise da imagem do EC e respetivo método de contagem celular, os critérios de exclusão aplicados e também as indicações da FDA. As modificações nas características da amostra estão diretamente relacionadas com a dimensão amostral, com a duração da DM e com o nível médio de HbA1c.

No que diz respeito à análise da imagem do EC a maioria dos investigadores não refere a realização desta análise após obtenção das imagens com microscópio especular (31-34,36,40,42). Apenas Shashi Ahuja, Rachapalle Shudir, Allan Storr-Paulsen e Batool Rivzi et al., analisaram as imagens obtidas recorrendo a *softwares* diferentes do utilizado neste estudo (35,37,39,41). Além disso, Shashi Ahuja, Rachapalle Shudir e Allan Storr-Paulsen et al., também utilizaram diferentes métodos para a contagem celular (35,37,39). No entanto, Batool Rivzi et al., não indicam o método usado para analisar a imagem do EC (41). Além disso, nenhum deles segue as indicações da FDA relativas ao estudo da morfologia endotelial.

Por último, no que diz respeito às diferenças verificadas ao nível da metodologia e aos critérios de exclusão aplicados, é importante salientar que Kenji Inoue et al., não excluíram indivíduos a utilizar medição ocular tópica e que realizaram fotocoagulação. (35)

O único estudo diferente da presente investigação, no que diz respeito à instrumentação utilizada é o estudo de Radha Shenoy et al., em que utilizaram um microscópio endotelial de contacto. (47)

Relativamente à duração da patologia, é importante salientar que contrariamente a esta investigação, no estudo de Stella Briggs et al., o número de indivíduos com diabetes há mais de 10 anos é muito superior ao número de diabéticos com a patologia há menos de 10 anos. (41) No estudo de Batool Rivzi et al., apenas estão incluídos diabéticos com a patologia há pelo menos 5 anos e no máximo até 10 anos com a patologia diagnosticada. (40)

O nível médio de HbA1c neste estudo ($6,7\pm 0,8\%$) é ligeiramente inferior comparativamente com os valores médios indicados nos estudos de Manisha Gupta et al., e de László Módis et al., que são respetivamente, $8,2\pm 1,0\%$ e $8,8\pm 2,0\%$. (30,42) No estudo de Allan Storr-Paulsen et al., o valor médio de HbA1c é de 7,3% sendo que os valores de cada individuo correspondem à média de 4 valores de HbA1c, intervalados de 3 meses para extrapolar o valor ao longo de um ano. (38)

Na zona paracentral e periférica os resultados são semelhantes entre si sendo que, apesar de não haver diferenças estatisticamente significativas, os valores médios da DCE e do CoV tendem a ser superiores nos diabéticos, ainda que ligeiramente na zona paracentral. Por sua vez, os valores médios da ACM tendem a ser menores enquanto que a HEX não difere com a presença da DM. Estes resultados, tal como na zona central, podem ser explicados pela constituição da amostra em sujeitos diabéticos uma vez que a maioria apresenta valores de HbA1c inferiores a 7% e duração da patologia inferior a 10 anos.

Ao analisar os resultados obtidos para a correlação com fatores de risco na zona central constata-se que os resultados obtidos estão de acordo com alguns estudos efetuados anteriormente. No entanto, estes mesmos estudos apenas correlacionam a morfologia do EC com a duração da DM, com a severidade da RD e com o controlo metabólico ou percentagem de HbA1c. Contudo, quer a duração da DM quer a severidade da RD não se correlacionam significativamente com os parâmetros morfológicos do EC. (31-34)

Por sua vez, surgem estudos que indicam que valores de HbA1c elevados estão associados a um aumento do CoV e uma redução na DCE. (31,38) Desta forma, a DMt2 não tem impacto na morfologia do EC em sujeitos com bom controlo glicémico. (38) Como na amostra deste presente estudo a grande maioria dos indivíduos diabéticos tem valores de HbA1c inferiores a 7%, parece justificar-se o facto de não haver uma correlação estatisticamente significativa dos parâmetros do EC com o nível de HbA1c para toda a superfície corneal.

Quanto aos restantes fatores de risco, nomeadamente, IMC, hábitos tabágicos e HTA não se encontraram estudos que os correlacionem com a morfologia endotelial, não permitindo a comparação com estudos prévios.

Por último, apenas Eesha Shukla et al., estabelecem uma correlação dos parâmetros do EC com a variável sexo e constatam que na zona central da córnea não existe uma correlação significativa entre a morfologia endotelial e a variável sexo, resultado concordante com o obtido neste mesmo estudo. (31)

Em suma, existe alguma controvérsia nos resultados obtidos dos estudos anteriormente referidos. No entanto, a maioria dos autores indicados ao longo do texto considera que nos indivíduos diabéticos a DCE é menor. (30-34,36,39-41,47) A ACM como parâmetro morfológico raramente avaliado, poderá ser maior nos indivíduos diabéticos ou não diferir entre diabéticos e não diabéticos. (30,39,42,47) O CoV e a HEX são parâmetros morfológicos do EC que não alteram com a presença da DM. (30,32,34-36,38,42)

Capítulo 6 - Conclusão

6.1. Conclusões do estudo

A presente dissertação de Mestrado teve como objetivo principal quantificar a DCE, a ACM, o CoV e a percentagem de células hexagonais na presença de DMt2. Como objetivos secundários, pretendeu-se correlacionar fatores de risco associados à DM com os parâmetros morfológicos mencionados e também avaliar três zonas corneais (zona central, paracentral e periférica).

Após quantificação dos parâmetros do EC e posterior comparação com grupo de indivíduos não diabéticos chegou-se à conclusão que os valores médios de DCE, ACM, CoV e HEX na amostra utilizada neste estudo não diferem entre o grupo dos indivíduos diabéticos e o grupo dos indivíduos não diabéticos. As conclusões obtidas para ACM, CoV e HEX verificam-se na maioria dos estudos como se percebe no capítulo anterior. A DCE tende a ser ligeiramente maior nos indivíduos diabéticos.

Posteriormente, ao correlacionar os fatores de risco associados à DM com os parâmetros morfológicos do EC verifica-se que neste estudo não existem fatores de risco que se correlacionem com a morfologia do EC e com significância estatística. No entanto, existe uma tendência mínima para que na zona central, indivíduos com valores de HbA1c superiores ou iguais a 7% apresentem um valor de DCE menor que os indivíduos com HbA1c inferiores a 7%.

Os resultados obtidos, quer para a quantificação morfológica quer para a correlação com fatores de risco associados à DM são transversais às três zonas corneais avaliadas.

Em suma, apesar de não surgirem diferenças significativas entre diabéticos e não diabéticos os objetivos propostos foram alcançados. Além disso, a presente investigação contribuiu para incentivar não só a análise da zona central da córnea como também a zona paracentral e zona periférica.

6.2. Limitações da investigação

Ao longo da realização deste trabalho de investigação surgiram algumas lacunas que podem decorrer numa interpretação errada dos resultados obtidos. As principais limitações que se encontram associadas à aquisição das imagens do EC, consistem no cansaço sentido ao longo das medições correspondendo a 15 posições medidas 3 vezes para ambos os olhos (20 a 30 minutos) e também na dificuldade em adquirir imagens na zona periférica.

6.3. Sugestões de trabalhos futuros

Com o intuito de preencher algumas das lacunas existentes no estudo da morfologia do EC, torna-se essencial a sugestão de trabalhos futuros para colmatar algumas dificuldades sentidas durante a realização deste trabalho de investigação.

- Aplicar a mesma metodologia numa amostra constituída por maior número de diabéticos há pelo menos 10 anos e com valores de HbA1c superiores ou iguais a 7%;
- Englobar na análise morfológica sujeitos com DMt1;
- Analisar morfologia do EC após realização de tratamento laser;
- Comparar morfologia do EC antes e após cirurgia da catarata;
- Prevalência de guttatas corneais;
- Criar tabela normativa para diferentes faixas etárias de todos os parâmetros do EC para todas as posições de fixação.

Bibliografia

1. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I., et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2014;103(2):137-49
2. GBD 2015 DALYs and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 315 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE), 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* [Internet] 2016; 388: 1603-58
3. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2018 Apr;138:271-81.
4. Azenha CM. Qualidade de vida e satisfação com o tratamento em diabéticos tipo II [master's thesis on the Internet]. Coimbra (Portugal): Faculdade de Economia da Universidade de Coimbra; 2014. 115 p.
5. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* [Internet]. 2010; 36(SUPPL.1):62-69
6. Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes* [Internet]. 2015;6(6):850-67.
7. Goldenberg R, Punthakee Z. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Can J Diabetes* [Internet]. 2013; 37(SUPPL.1):8-11.
8. Direção-Geral da Saúde. Norma da Direção Geral da Saúde [Internet]. 2011;1-13.
9. American Diabetes Association. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2009;32(7):1327-34.
10. Nolan J. What is type 2 Diabetes?. *Medicine* [Internet]. 2002; 30(1):6-10
11. Kahn S. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia* [Internet]. 2003;46(1):3-19.
12. Leahy J. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res* [Internet]. 2005;36(3):197-209.

13. Ramlo-Halsted BA, Edelman S. The natural history of type 2 diabetes: practical points to consider in developing prevention and treatment strategies. *Prim Care* [Internet]. 1999; 26(4): 771-89.
14. Goldstein B. Insulin resistance as the core defect in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* [Internet]. 2002; 90(5A):3G-10G.
15. Sociedade Portuguesa de Diabetologia. Diabetes: Factos e números 2015 - relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes [Internet]. 2015
16. Calvo-Maroto A, Perez-Cambrodi R, Albaran-Diego C, Pons A, Cervino A. Optical quality of the diabetic eye: a review. *Eye (Lond.)* [Internet]. 2014;28(11):1271-80.
17. Bikbova G, Oshitari T, Tawada A, Yamamoto S. Corneal changes in diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev* [Internet]. 2012;8(4):294-302.
18. Luty G. Effects of diabetes on the eye [Internet]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(14):81-7.
19. Shih K, Lam K, Tong L. A systematic review on the impact of diabetes mellitus on the ocular surface. *Nutr Diabetes* [Internet]. 2017;7(3):e251.
20. Ljubimov A. Diabetic complications in the cornea. *Vision Res* [Internet]. 2017;139:138-52.
21. Sayin N, Kara N, Pekel G. Ocular complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes* [Internet]. 2015;6(1):92-108.
22. Fong D, Aiello L, Gardner T, et al. Retinopathy in Diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2004;27(SUPPL. 1).
23. Akram M, Khalid S, Tariq A, Khan S, Azam F. Detection and classification of retinal lesions for grading of diabetic retinopathy. *Comput Biol Med* [Internet]. 2014;45(1):161-71.
24. Segalás A. Estudo da Prevalência da Retinopatia Diabética e dos Factores de Risco Associados, numa População de Diabéticos Tipo 2 seguidos numa Unidade de Cuidados de Saúde Primários no Distrito de Lisboa [master's thesis on the Internet]. Lisboa (Portugal): Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina de Lisboa; 2011. 120p
25. Steele C, Steel D, Waite C. *Eye Essentials: Diabetes and the Eye*. 1st ed. Elsevier [Internet]. 2008. 248 p.

26. American Diabetes Association. International Clinical Diabetic Retinopathy Disease Severity Scale. International Council of Ophthalmology [Internet]. 2002
27. Sheng H, Bullimore M. Factors affecting corneal endothelial morphology. *Cornea* [Internet]. 2007;26(5):520-5.
28. Srinivas S. Dynamic Regulation of Barrier Integrity of the Corneal Endothelium. *Optom Vis Sci* [Internet]. 2010;87(4):E2391-54.
29. Bourne W. Biology of the corneal endothelium in health and disease. *Eye (Lond)* [Internet]. 2003;17(8):912-8.
30. Gupta M, Pandey A, Tyagi R. A study of corneal changes - endothelial cell density (ECD) and central corneal thickness (CCT) in Type-2 DM in relation to Hba1c levels and compare it with healthy individuals. *Indian J Clin Exp Ophthalmol* [Internet]. 2016;2(2):123-7.
31. Shukla E, Nicholson A, Agrawal A, Rathod D. Correlation between severity of Type 2 Diabetes Mellitus and corneal morphology using specular microscopy in Indian population: A case-control study. *Sudanese J Ophthalmol* [Internet]. 2016;8(1):30-5.
32. Rao K, Krishna N, Srilatha G. Effect of Diabetes Mellitus on central corneal thickness and endothelial cell count. *J Evol Med Dent Sci* [Internet]. 2016;5(79):5885-8.
33. El-Agamy A, Alsubaie S. Corneal endothelium and central corneal thickness changes in type 2 diabetes mellitus. *Clin Ophthalmol* [Internet]. 2017;11:481-6.
34. Sumit , Shashi A, Bammigatti C, Kumar P. Corneal endothelial changes in patients of Type 2 Diabetes Mellitus using specular microscopy. *EC Ophthalmol* [Internet]. 2017;4:100-7.
35. Inoue K, Kato S, Inoue Y, Amano S, Oshika T. Corneal endothelium and thickness in Type II Diabetes Mellitus. *Jpn J Ophthalmol* [Internet]. 2002;46(1):65-9.
36. Sudhir R, Raman R, Sharma T. Changes in the corneal Endothelial Cell Density and morphology in patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Cornea* [Internet]. 2012;31(10):1119-22.
37. Calvo-Maroto A, Cerviño A, Perez-Cambrodí R, García-Lázaro S, Sanchis-Gimeno J. Quantitative corneal anatomy: Evaluation of the effect of diabetes duration on the endothelial cell density and corneal thickness. *Ophthalmic Physiol Opt* [Internet]. 2015;35(3):293-8.

38. Storr-Paulsen A, Singh A, Jeppesen H, Norregaard J, Thulesen J. Corneal endothelial morphology and central thickness in patients with type II diabetes mellitus. *Acta Ophthalmol* [Internet]. 2014;92(2):158-60.
39. Dawood Y, Al-Quraishi N. Corneal specular microscopy changes in type II Diabetes Mellitus. *Iraq PostGrad Med* [Internet]. 2014;13(4):591-8.
40. Rizvi B, Zafar O. Comparison of the corneal endothelial cell count in type II diabetic patients with healthy adults. *Pak Armed Forces Med* [Internet]. 2015;66(4):494-97.
41. Briggs S, Osuagwu U, AlHarthi E. Manifestations of type 2 diabetes in corneal endothelial cell density, corneal thickness and intraocular pressure. *J Biomed Res* [Internet]. 2015;30(1):46-51.
42. Módis L, Szalai E, Kertész K, et al. Evaluation of the corneal endothelium in patients with diabetes mellitus type I and II. *Histol Histopathol* [Internet]. 2010;25(12):1531-7.
43. McCarey B, Edelhauser H, Lynn M. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices and new intraocular drugs and solutions. *Cornea* [Internet]. 2008;27(1):1-16.
44. Nidek. *Microscópio Especular CEM-530 - manual do utilizador*. 2013
45. Pestana MH, Gageiro JN. *Análise de dados para ciências sociais: a complementaridade do SPSS*. 5ª ed. Lisboa: Edições Sílabo [Internet]; 2008.
46. Armstrong R. Statistical guidelines for the analysis of data obtained from one or both eyes. *Ophthalmic Physiol Opt* [Internet]. 2013;33(1):7-14.
47. Shenoy R, Khandekar R, Bialasiewicz A., Al Muniri A. Corneal endothelium in patients with diabetes mellitus: a historical cohort study. *Eur J Ophthalmol* [Internet]. 2009;19(3):369-75.

ANEXOS

1. Anexo I - Parecer da Comissão de Ética da ARSC



COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE

PARECER FINAL: Parecer favorável. O investigador deverá, no entanto, juntar ao processo o protocolo celebrado entre a UBI e o ACES - CB.	DESPACHO: Homologação - de o parecer final da emissão de Ética para a Saúde 19.11.2015 Conselho Diretivo da A.R.S. do Centro, L.P. Dr. José Manuel Azênhã Tereso Presidente, Dr.ª Maria Augusta Mota Vice-Presidente,
--	--

ASSUNTO: 70/2015 - Análise da Influência de Parâmetros Visuais na Qualidade de Vida do Paciente Diabético na Região da Costa da Beira

Dr. Luís Manuel Militão Mendes Cabral
Vogal,

A diabetes é uma patologia com uma enorme incidência mundial com tendência para aumentar. Infelizmente, não obstante as medidas preventivas e de educação o número de diabéticos aumenta também fruto de uma cada vez maior população envelhecida. Uma das consequências da diabetes é a retinopatia diabética. Com o avançar da doença há uma progressiva diminuição da acuidade visual que pode, inclusive, conduzir à cegueira. Urge, pois, estudar a retinopatia diabética, estudar causas, formas de controlo da doença e tratamentos. O estudo apresentado poderá revelar ser uma mais valia no desenvolvimento e aperfeiçoamento dos tratamentos da retinopatia diabética.

Coimbra, 18 de novembro de 2015

O Relator

(Dra. Caria Barbosa)

O Presidente da CES

(Prof. Doutor Fontes Ribeiro)

2. Anexo II - Consentimento Informado



CARTA EXPLICATIVA AO PARTICIPANTE DO ESTUDO

“Estudo das alterações no endotélio corneal em sujeitos com DM tipo 2”

Exmo.(a) Sr(a). vimos por este meio solicitar a sua participação num projeto de investigação que envolve a análise estrutural e morfológica do endotélio corneal. Neste estudo, será obtido um registo fotográfico do endotélio em diferentes pontos de fixação.

Informamos que os testes a realizar são indolores, não invasivos e sem complicações; com uma duração de aproximadamente 30 minutos, podendo excepcionalmente durar 45 minutos.

Qualquer informação recolhida é estritamente confidencial. O seu nome e todos os contactos fornecidos não serão revelados no estudo, assim como a sua identidade não será revelada a terceiros. Os dados obtidos poderão ser utilizados em publicações futuras, respeitando-se sempre a confidencialidade. No final da sua participação ser-lhe-á dado um relatório sobre a sua visão mediante os exames efetuados nesta investigação.

Agradecemos a sua participação neste estudo e informamos que poderá desistir do mesmo a qualquer momento sem que hajam quaisquer repercussões. Os testes serão efetuados pela licenciada em Optometria – Ciências da Visão e atual aluna de mestrado em Optometria e Ciências da Visão, Joana Tiago. Em caso de dúvidas contactar a responsável do estudo, através do e-mail joanafilipa_8@hotmail.com ou joana.tiago@ubi.pt.

A responsável do projeto

.....

CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO

Eu, _____, consinto em participar num estudo sobre as alterações no endotélio corneal. Foi-me explicado o objetivo experimental do protocolo e igualmente informado que poderei interromper a participação na investigação sempre que for esta a minha decisão, sem que daí resulte alguma repercussão. Por último, foi-me explicado o procedimento dos exames.

Covilhã, ____ de _____ de 20____

Assinatura

3. Anexo III - Folha de registo

CASO <input type="checkbox"/> CONTROLO <input type="checkbox"/>		CÓDIGO (CCECV)		R0007PN				
		CÓDIGO (UBIMRD)						
		CONTACTO TELEFÓNICO						
DADOS DO SUJEITO	DATA: ___ / ___ / ___ (UBIMED)	DN: ___ / ___ / ___	OLHO DIRETOR: OD <input type="checkbox"/> OE <input type="checkbox"/>	DIABETES: TIPO 2 <input type="checkbox"/> DESDE: _____ COMPRIADOS <input type="checkbox"/> INSULINA <input type="checkbox"/> DESDE: _____		PESO: _____ kg ALTURA: _____ m		
	DATA: ___ / ___ / ___ (CCECV)	Género: F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>						
HTA: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> PA: ___ / ___		HbA1C: _____% DATA: ___ / ___ / ___ TRIGLICÉRIDOS: _____ COLESTEROL TOTAL: _____ LDL: _____ HDL: _____	TABACO: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> DEIXOU: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> DESDE: _____ CIGARS/DIA _____					
REFRAÇÃO	ABERRÓMETRO		AUTO-Rx		PIO (mmHg)	Hora		
	OD		OD		OD			
	OE		OE		OE			
	FOCÓMETRO		ESF/CIL x EIXO (VL)	PRISMA x BASE	TIPO	ADIÇÃO	ESF/CIL x EIXO (VP)	
OD				<input type="checkbox"/> Progress. <input type="checkbox"/> Bifocais <input type="checkbox"/> 2 óculos				
OE								
BIOMICROSCOPIA				RETINOGRRAFIA				
OD	<input type="checkbox"/> com alterações <input type="checkbox"/> sem alterações			OD	<input type="checkbox"/> Sem RD	<input type="checkbox"/> Com RD não proliferativa		
OE	<input type="checkbox"/> com alterações <input type="checkbox"/> sem alterações			OE	<input type="checkbox"/> Sem RD	<input type="checkbox"/> Com RD não proliferativa		
OUTRAS OBSERVAÇÕES:				SINAIS DE RD PROLIFERATIVA: <input type="checkbox"/> Neovascularização (DO e/ou grandes vasos retinianos) <input type="checkbox"/> Hemorragias vítreas ou pré-retinianas <input type="checkbox"/> Proliferação de tecido fibroso				
				MEDICAÇÃO:				
MICROSCOPIA ENDOTELIAL - OD								
	Nº células	Densidade celular	Área média	Desvio padrão	CoV	Área máxima	Área mínima	Hexagonalidade
C								
0°								
45°								
90°								
135°								
180°								
225°								

MICROSCOPIA ENDOTELIAL - OD (continuação)								
	Nº células	Densidade celular	Área média	Desvio padrão	CoV	Área máxima	Área mínima	Hexagonalidade
270°								
315°								
Sup. Esq								
Sup. C								
Sup. dta								
Inf. dta								
Inf. C								
Inf. esq.								
MICROSCOPIA ENDOTELIAL - OE								
C								
0°								
45°								
90°								
135°								
180°								
225°								

Estudo da morfologia do endotélio corneal em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 2

MICROSCOPIA ENDOTELIAL - OE (continuação)								
	Nº células	Densidade celular	Área média	Desvio padrão	CoV	Área máxima	Área mínima	Hexagonalidade
270°								
315°								
Sup. Esq.								
Sup. C								
Sup. dta.								
Inf. dta								
Inf. C								
Inf. esq								

4. Anexo IV - Carta de aceitação da comunicação oral do Congresso Internacional de Optometria e Ciências da Visão (CIOCV)

CIOCV2018 Oral Communication (Clinical Case) acceptance letter



Dear author,

It is our pleasure to inform you that your communication with the title "Study of endothelial morphology in patients with Diabetes Mellitus type 2" was accepted as an oral communication to be presented at the CIOCV2018 conference.

Please do prepare a set of slides to present your work in the planned time of 13 minutes, so 2 minutes can be used for public questions. Please be aware that his time will be hard-lined. There will be an windows laptop with PowerPoint for you to use. If you prefer you can bring your own laptop, but please ensure that you have an HDMI suitable display port or a VGA display port.

You can double check the CIOCV2018 conference program and monitor any last minute change to the expected Sunday morning time to present the talks, here: <http://ciocv.fisica.uminho.pt/en/congress/program>

Please do register at the conference so you accreditation can go through the expected steps but do not pay the requested amount. Please be aware that only the first author is entitled to the free registration at the CIOCV2018 conference.

We will see you in Braga.

With kind regards,

The CIOCV2018 Scientific Committee.