



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS MÉDICAS

NATÁLIA BITAR DA CUNHA OLEGARIO

**ESTUDO LONGITUDINAL DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA DE
PACIENTES COM LIPODISTROFIA GENERALIZADA CONGÊNITA
ATRAVÉS DA TÉCNICA ECOCARDIOGRÁFICA BIDIMENSIONAL COM
*SPECKLE TRACKING***

FORTALEZA

2022

NATÁLIA BITAR DA CUNHA OLEGARIO

**ESTUDO LONGITUDINAL DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA DE
PACIENTES COM LIPODISTROFIA GENERALIZADA CONGÊNITA
ATRAVÉS DA TÉCNICA ECOCARDIOGRÁFICA BIDIMENSIONAL COM
*SPECKLE TRACKING***

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
Stricto Sensu em Ciências Médicas do
Departamento de Medicina Clínica da Faculdade
de Medicina da Universidade Federal do Ceará
como requisito para a obtenção do grau de Doutor
em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Renan Magalhães
Montenegro Júnior

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O1 Olegario, Natália Bitar da Cunha.
Estudo longitudinal da função ventricular esquerda de pacientes com lipodistrofia generalizada congênita através da técnica ecocardiográfica bidimensional com speckle tracking / Natália Bitar da Cunha Olegario. – 2022.
99 f. : il.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Renan Magalhães Montenegro Júnior.
1. Ecocardiografia. 2. Função ventricular esquerda. 3. Lipodistrofia Generalizada Congênita. I. Título.
CDD 610
-

NATÁLIA BITAR DA CUNHA OLEGARIO

**ESTUDO LONGITUDINAL DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA DE
PACIENTES COM LIPODISTROFIA GENERALIZADA CONGÊNITA
ATRAVÉS DA TÉCNICA ECOCARDIOGRÁFICA BIDIMENSIONAL COM
*SPECKLE TRACKING***

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciências Médicas do Departamento de Medicina Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Médicas.

Aprovada em: 31/10/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Renan Magalhães Montenegro Júnior (Orientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Profa. Dra. Daniela Gardano Bucharles Mont'alverne
Universidade Federal do Ceará – UFC

Profa. Dra. Ana Gardenia Liberato Ponte Farias
Universidade Federal do Ceará – UFC

Profa. Dra. Sandra Nívea dos Reis Saraiva Falcão
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dra. Maria Helane Costa Gurgel Castelo
Centro Universitário Christus- UNICHRISTUS

O conhecimento emerge apenas através da invenção e da reinvenção, através da inquietante, impaciente, contínua e esperançosa investigação que os seres humanos buscam no mundo, com o mundo e uns com os outros.

Paulo Freire

AGRADECIMENTOS

À Deus, sempre ao meu lado, generoso, presente, perfeito.

À pessoa que desde o início acreditou em meu potencial e colaborou grandemente na minha formação científica e acadêmica, o meu agradecimento, respeito e admiração ao meu orientador Prof. Dr. Renan Magalhães Montenegro Júnior.

Ao coordenador do Programa Pós-Graduação em Ciências Médicas, Prof. Dr. Reinaldo Barreto Oriá, o meu agradecimento pela oportunidade de fazer parte de tão respeitado programa de pós-graduação.

Ao meu marido e companheiro de vida, Guilherme Pinheiro Ferreira da Silva. Você acredita em mim mais do que eu mesma, me incentiva, soma, multiplica, me faz maior! Obrigada pela parceria nesses vários anos de caminhada.

À minha filha Beatriz, a razão de tudo, o que me move, minha dose de coragem diária, alegria de todos os dias. Um dia você vai ler essa página e lembrar o quanto eu te amo e o quanto eu cresci por você.

À minha avó Luiza Rodrigues Bitar da Cunha, que foi por toda a minha vida, colo, consolo, calma, cuidado e amor incondicional. Você vai ser sempre a minha pessoa favorita no mundo.

Aos meus pais, Luiz Olegario Neto e Luiza Maria Bitar da Cunha Olegario, responsáveis por quem eu sou, aqueles que trabalharam arduamente para me oferecerem todas as oportunidades que a educação pode trazer. Vocês são exemplos e pilares. Obrigada por tudo! Essa conquista é de vocês!

Aos meus irmãos, Joel Sotero da Cunha Neto e Caroline Bitar da Cunha Olegario, que caminham comigo de mãos dadas, atravessando essa vida cheia de desafios. Estaremos sempre juntos, compartilhando todas as vitórias, nos apoiando em todas as dificuldades.

À minha cunhada, irmã que a vida me deu, Ana Carla Magalhães, que trouxe sorrisos nos momentos de aflição ao longo dessa trajetória.

Ao meu querido tio Miguel Bitar que, desde a minha infância, estimulou de várias formas minha dedicação aos estudos e vibrou com minhas conquistas.

Aos sogros, Ana Maria do Rosário Siqueira Pinheiro e Ney Carlos Ferreira da Silva e ao cunhado, Gabriel Pinheiro Ferreira da Silva, a família que eu ganhei, obrigada por todas as orações, apoio e torcida durante essa trajetória.

Às minhas eternas professoras, Daniela Gardano Bucharles Mont'alverne e Ana Maria Fontenelle Catrib, mestres com quem hoje tenho a honra de dividir o desafio da

carreira acadêmica. Vocês fazem parte dessa história. Obrigada por contribuírem para a minha formação profissional, acadêmica e científica. Vocês são exemplos, espelhos para a minha prática docente.

Às queridas colegas de pós-graduação, Erika Bastos, Mayara Madeira, que sem deixavam os dias mais leves e que muito contribuíram na dinâmica da execução projeto.

Às amigas Synara Cavalcante Lopes Braga, Natasha Vasconcelos Albuquerque e Sara Teixeira Gomes Flores de Oliveira, que caminharam comigo de mãos dadas, compartilharam aflições e comemoraram cada etapa vencida.

À colega tão querida, Christiane Bezerra Rocha Liberato, que dividiu comigo cada passo dessa pesquisa, realizou todos os exames ecocardiográficos, comemorou cada aprendizado da nossa trajetória acadêmica e vibrou por cada nova descoberta da minha transformação em mãe. Esse trabalho também é seu.

Aos queridos colaboradores Antônio Brazil Viana Júnior e Ivone Mary Fontenele de Sousa, fundamentais para a concretização desse sonho.

A todos os queridos pacientes, o meu muito obrigado.

RESUMO

ESTUDO LONGITUDINAL DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA DE PACIENTES COM LIPODISTROFIA GENERALIZADA CONGÊNITA ATRAVÉS DA TÉCNICA ECOCARDIOGRÁFICA BIDIMENSIONAL COM *SPECKLE TRACKING*. NATÁLIA BITAR DA CUNHA OLEGARIO. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Médicas. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Orientador: Prof. Dr. Renan Magalhães Montenegro Júnior.

Contextualização: A Lipodistrofia Generalizada Congênita (LGC) é uma doença autossômica recessiva, rara e caracterizada pela ausência total ou quase total de tecido adiposo subcutâneo. A síndrome pode cursar com deficiência de leptina, grave resistência à insulina, diabetes mellitus, dislipidemia, esteatose hepática, aterosclerose prematura e hipertensão arterial sistêmica, condições reconhecidas como importantes fatores de risco cardiovascular. Estudos que apontam desarranjos na estrutura e função do coração utilizaram o método bidimensional para avaliação ecocardiográfica, entretanto, a técnica de estudo da deformação miocárdica pelo *speckle-tracking* bidimensional (ST2D) é mais sensível na investigação da função do ventrículo esquerdo. **Objetivo:** Avaliar a evolução da função ventricular esquerda de pacientes com Lipodistrofia Generalizada Congênita.

Métodos: Foi realizado um estudo longitudinal no período de janeiro de 2016 a janeiro de 2022, com todos os pacientes com LGC em seguimento no Ambulatório de Lipodistrofias do Hospital Universitário da Universidade Federal do Ceará/Ebserh. Seguindo protocolo clínico de seguimento, foram incluídos todos os participantes submetidos a um ecocardiograma (ECO) bidimensional e a um ST2D em duas ocasiões. Essa técnica realizou a medida do *strain* longitudinal global (SGL), obtida pela avaliação da média do valor de deformação dos 18 segmentos do ventrículo esquerdo nas três incidências apicais padrão. Foi também realizada avaliação bioquímica e estudo molecular dos pacientes com a síndrome. **Resultados:** Dos 23 pacientes com LGC em seguimento, foram incluídos no estudo 20 pacientes que realizaram 2 exames, com um intervalo médio entre os exames de $51 \pm 16,4$ meses. Tais pacientes tinham idade média foi de $14,7 \pm 11,2$ anos, 60% eram do sexo feminino, sendo 15 com LGC tipo 1 e 5 com

LGC tipo 2. Todos os pacientes apresentavam hipoleptinemia, 60% HDL-c baixo, 55% hipertrigliceridemia, 85% diabetes, 45% hipercolesterolemia e 20% hipertensão arterial sistêmica (HAS). Quando comparados os dados do ECO bidimensional, evidenciou-se aumento do volume sistólico e diastólico do VE, entre as duas avaliações, o grupo com idade inferior à 18 anos. Quanto às avaliações dos pacientes com idade maior que 18 anos, foram encontrados piora da fração de ejeção do VE e aumento do volume diastólico do átrio esquerdo. Na primeira avaliação através da técnica do ST2D, 60% (n=12) dos pacientes apresentaram SGL reduzido. Na avaliação mais recente evidenciou-se valores de SGL reduzidos em 65% (n=13) dos pacientes com LGC, destes, 23% (n=3) tinham mutação no gene BCL2. Foi encontrada correlação do SGL com as variáveis glicemia e glicohemoglobina A1c. **Conclusões:** Neste estudo foi possível demonstrar em uma grande série de pacientes predominantemente jovens com lipodistrofia generalizada congênita, alterações precoces e subclínicas da função ventricular esquerda, através da técnica de speckle-tracking bidimensional, sendo observada disfunção diastólica em 35% dos pacientes no momento da segunda avaliação. Na avaliação longitudinal, a primeira descrita em pacientes com essa condição, realizada em um intervalo médio de $51 \pm 16,4$ meses, evidenciou-se piora da fração de ejeção, através do ecocardiograma bidimensional, embora não sendo observada piora nos valores de strain. Houve, contudo, associação entre a progressão das alterações cardíacas subclínicas e mau controle glicêmico (HbA1c e glicemia), sendo o diagnóstico de diabetes relacionado à redução do strain global longitudinal.

Descritores: Ecocardiografia. Função ventricular esquerda. Lipodistrofia Generalizada Congênita.

ABSTRACT

LONGITUDINAL STUDY OF THE LEFT VENTRICULAR FUNCTION OF PATIENTS WITH CONGENITAL GENERALIZED LIPODYSTROPHY THROUGH THE TWO-DIMENSIONAL SPECKLE-TRACKING ECHOCARDIOGRAPHIC STUDY. NATÁLIA BITAR DA CUNHA OLEGARIO. Thesis (Doctorate). Post-Graduation Program (Stricto Sensu) in Medical Sciences. Federal University of Ceará. Supervisor: Professor. Doctor. Renan Magalhães Montenegro Júnior.

Background: Congenital Generalized Lipodystrophy (CGL) is a rare autosomal recessive disease characterized by the total or almost total absence of subcutaneous adipose tissue. The syndrome may present with leptin deficiency, severe insulin resistance, diabetes mellitus, dyslipidemia, hepatic steatosis, premature atherosclerosis and systemic arterial hypertension, conditions recognized as important cardiovascular risk factors. Studies that point to disorders in the structure and function of the heart used the two-dimensional method for echocardiographic evaluation, however, the technique of studying myocardial deformation by two-dimensional speckle-tracking (ST2D) is more sensitive in the investigation of left ventricular function. **Objective:** To evaluate the evolution of left ventricular function in patients with Congenital Generalized Lipodystrophy. **Methods:** A longitudinal study was carried out from January 2016 to January 2022, with all patients with CGL being followed up at the Lipodystrophies Outpatient Clinic of the University Hospital of the Federal University of Ceará/Ebserh. Following a follow-up clinical protocol, all participants who underwent a two-dimensional ECHO and a ST2D on two occasions were included. This technique performed the measurement of global longitudinal strain (SGL), obtained by evaluating the mean strain value of the 18 left ventricular segments in the three standard apical views. Biochemical evaluation and molecular study of patients with the syndrome were also performed. **Results:** Of the 23 patients with LCG in follow-up, 20 patients who underwent 2 exams were included in the study, with a mean interval between exams of 51 ± 16.4 months. Such patients had a mean age of 14.7 ± 11.2 years, 60% were female, 15 with CGL type 1 and 5 with CGL type 2. All patients had hypoleptinemia, 60% had low HDL-c, 55 % hypertriglyceridemia, 85% diabetes, 45% hypercholesterolemia and 20% systemic arterial hypertension (SAH). When comparing the two-dimensional ECHO data, there was an increase in LV systolic and diastolic volume between the two assessments, in the group younger than 18 years. As for the assessments of patients older than 18 years, worsening of LV ejection fraction and increase in left atrial diastolic

volume were found. In the first evaluation using the ST2D technique, 60% (n=12) of the patients had reduced SGL. The most recent evaluation showed reduced SGL values in 65% (n=13) of patients with CGL, of whom 23% (n=3) had a mutation in the BCLS2 gene. A correlation was found between the SGL and the variables glycemia and glycohemoglobin A1c. **Conclusions:** In this study, it was possible to demonstrate, in a large series of predominantly young patients with congenital generalized lipodystrophy, early and subclinical changes in left ventricular function, using the two-dimensional speckle-tracking technique, with diastolic dysfunction being observed in 35% of the patients at the time of second evaluation. In the longitudinal evaluation, the first described in patients with this condition, performed at a mean interval of 51 ± 16.4 months, there was evidence of worsening of the ejection fraction through the two-dimensional echocardiogram, although no worsening of strain values was observed. There was, however, an association between the progression of subclinical cardiac alterations and poor glycemic control (HbA1c and glycemia), with the diagnosis of diabetes being related to the reduction of the longitudinal global strain.

Keywords: Echocardiography. Left Ventricular Function. Congenital Generalized Lipodystrophy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Primeiros casos descritos de pacientes com lipodistrofia generalizada congênita

Figura 2: Marcação das bordas internas do ventrículo esquerdo para delimitar a região de interesse do miocárdio, incidência apical de 3C.

Figura 3: Escala de gráficos e cores representando o *strain* 2D dos segmentos do VE nos cortes apicais

Figura 4: Mapa polar ou *bull's eye* apresentando os valores do *strain* segmentar e *strain* global longitudinal do ventrículo esquerdo.

Figura 5: Mapa polar ou *bull's eye* de 04 pacientes do estudo com Lipodistrofia Generalizada Congênita

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características clínicas dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.

Tabela 2: Comparação das variáveis metabólicas entre as duas avaliações dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.

Tabela 3: Comparação dos dados do ecocardiograma bidimensional entre as duas avaliações dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.

Tabela 4: Achados do ecocardiograma bidimensional entre as duas avaliações de 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.

Tabela 5: Comparação dos dados do ecocardiograma bidimensional dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita, classificados pela faixa etária.

Tabela 6: Características clínicas, metabólicas, genótípicas e ecocardiográficas de 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita

Tabela 7: Comparação dos dados do estudo da deformação miocárdica pelo speckle-tracking bidimensional dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita, classificados pela faixa etária.

Tabela 8: Correlações entre o *strain* global longitudinal (SGL) e parâmetros metabólicos dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita nas duas avaliações.

Tabela 9: Análise comparativa dos parâmetros ecocardiográficos e do *strain* global longitudinal dos 15 pacientes com Lipodistrofia generalizada congênita diabéticos.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	Átrio esquerdo
AGLs	Ácidos Graxos Livres
ASC	Área de superfície corpórea
CT	Colesterol Total
DDVE	Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo
DM	Diabetes Mellitus
DSVE	Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo
ECG	Eletrocardiograma
ECO	Ecocardiograma
FE	Fração de Ejeção
GE	General Eletrics
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HbA1c	Hemoglobina Glicada
HDL-c	Colesterol de lipoproteína de alta densidade
HOMA-IR	Modelo de avaliação da homeostasia – Resistência à Insulina
HVE	Hipertrofia do Ventrículo Esquerdo
ICC	Insuficiência Cardíaca Congestiva
IGF-1	Fator de crescimento insulina-símile tipo 1
IMVE	Índice de Massa do Ventrículo Esquerdo
IVAE	Índice de Volume do Átrio Esquerdo
LDL-c	Colesterol de lipoproteína de baixa densidade
LGC	Lipodistrofia Generalizada Congênita
PA	Pressão arterial
RI	Resistência à ação da insulina
RCV	Risco cardiovascular
SGL	<i>Strain</i> Global Longitudinal
ST2D	<i>Speckle-Tracking</i> Bidimensional
VAE	Volume do átrio esquerdo
VDAE	Volume diastólico do átrio esquerdo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Lipodistrofia Generalizada Congênita.....	16
1.1.1 Definição, aspectos históricos e epidemiológicos.....	16
1.1.2 Etiologia, apresentação clínica e diagnóstico.....	17
1.2 Alterações metabólicas em pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.....	21
1.3 Técnica ecocardiográfica bidimensional com <i>Speckle-tracking</i>	24
1.4 Manifestações cardiovasculares na Lipodistrofia generalizada congênita.....	26
1.5 Justificativa e Relevância.....	28
1.6 Hipótese.....	28
2 OBJETIVOS	28
2.1 Objetivo Geral.....	29
2.2 Objetivos específicos.....	29
3 MÉTODOS	30
3.1 Tipo de estudo.....	30
3.2 Local e período do estudo.....	30
3.3 Aspectos éticos.....	30
3.4. Participantes da pesquisa.....	30
3.5 Delineamento do estudo.....	30
3.6 Coleta de dados.....	31
3.6.1 Avaliação clínica.....	31

3.6.1.1 Ectoscopia.....	31
3.6.1.2 Cálculo da área de superfície corpórea (ASC).....	32
3.6.1.3 Mensuração da pressão arterial.....	32
3.6.2 Exames laboratoriais.....	32
3.6.3 Estudo molecular.....	33
3.6.4 Ecocardiograma transtorácico bidimensional.....	34
3.6.5 Estudo da Deformação Miocárdica pelo <i>Speckle-tracking</i> Bidimensional.....	35
3.7 Análise estatística.....	39
4 RESULTADOS.....	40
5 DISCUSSÃO.....	49
6 CONCLUSÕES.....	56
7 REFERÊNCIAS.....	57
8 APÊNDICE A- PRODUÇÃO CIENTÍFICA	70

1. INTRODUÇÃO

A Lipodistrofia Generalizada Congênita (LGC) é uma doença autossômica recessiva, rara e caracterizada pela ausência total ou quase total de tecido adiposo subcutâneo, observada desde o nascimento ou início da infância. A LGC pode cursar com deficiência de leptina, grave resistência à insulina (RI), diabetes mellitus (DM), dislipidemia, esteatose hepática, aterosclerose prematura e hipertensão arterial sistêmica (HAS), condições reconhecidas como importantes fatores de risco cardiovascular (RCV), aumentando, assim, a morbimortalidade cardíaca destes pacientes (GARG; MISRA, 2004).

A presença de anormalidades cardíacas na LGC tem sido descrita desde 1959 (SEIP, 1959), incluindo hipertensão, aterosclerose, hipertrofia ventricular esquerda, insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio, neuropatia autonômica cardiovascular, modulação autonômica anormal, distúrbios eletrocardiográficos, arritmias cardíacas e morte súbita (BROWN *et al.*, 2016; HUSSAIN; PATNI; GARG, 2018; REGO *et al.*, 2009; PONTE *et al.*, 2019; HSU *et al.*, 2019). Os estudos em outras populações com LGC que apontam desarranjos na estrutura e função do coração utilizaram o método bidimensional (ECO) para avaliação ecocardiográfica, entretanto, a técnica de estudo da deformação miocárdica pelo *speckle-tracking* bidimensional (ST2D) é mais sensível na investigação da função do ventrículo esquerdo (VE) (AMUNDSEN *et al.*, 2006).

O ST2D é uma técnica ecocardiográfica avançada que permite quantificação da deformação miocárdica, chamada de *strain*, usando um software semiautomatizado, que foi desenvolvido inicialmente para aplicação no VE e foi então aplicado a todas as câmaras cardíacas. ST2D fornece informações aditivas sobre a função cardíaca com uma análise segmentar independente do ângulo, quantificando o movimento das fibras miocárdicas em todo o ciclo cardíaco. Há mais de 10 anos, a técnica foi integrada em algoritmos clínicos para a identificação de dano miocárdico sutil, obtendo um diagnóstico precoce de insuficiência cardíaca, detectando anormalidades subclínicas da contração miocárdica (CAMELI *et al.*, 2019). Este recurso, pode, portanto, ser útil na detecção pré-clínica de desarranjos na contração miocárdica em pacientes com LGC, com maior risco

cardiovascular, possibilitando, assim, intervenção precoce e otimização do prognóstico clínico desta população.

1.1 LIPODISTROFIA GENERALIZADA CONGÊNITA

1.1.1 Definição, aspectos históricos e epidemiológicos

As lipodistrofias são patologias caracterizadas pela perda seletiva de tecido adiposo e predisposição para o desenvolvimento de desordens metabólicas, cuja gravidade se correlaciona com a extensão da perda. As lipodistrofias podem ser classificadas de acordo com a origem congênita ou adquirida, e com a natureza parcial ou generalizada da perda de tecido adiposo (GARG, 2004). A forma parcial caracteriza-se pela ausência do tecido adiposo localizado, principalmente nas extremidades, em contrapartida, na forma generalizada existe total ou quase total ausência deste órgão endócrino (PATNI; GARG, 2015).

A LGC ou Síndrome de Berardinelli- Seip, é uma rara doença autossômica recessiva, caracterizada pela ausência total ou quase total de tecido adiposo, incluindo tecido adiposo periférico (subcutâneo), cavidades intra-abdominal, intratorácica, medula óssea e glândulas paratireoides (BERARDINELLI, 1954; SEIP, 1959; GARG, 2004). A síndrome foi inicialmente descrita por um médico brasileiro em 1954, que apresentou dois casos da doença (BERARDINELLI, 1954) e, posteriormente por Seip (1959) que relatou três casos, incluindo dois irmãos (Figura 1).

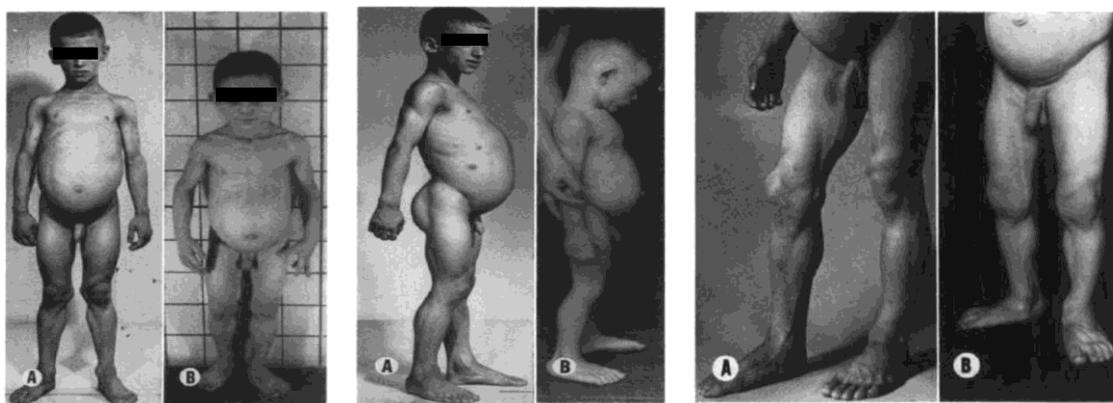


Figura 1 – Primeiros casos descritos de pacientes com lipodistrofia generalizada congênita

Fonte: Adaptada de Berardinelli (1954).

Notas: A: brasileiro, masculino, 6 anos; B: brasileiro, masculino, 2 anos. Observa-se em ambos os casos lipodistrofia generalizada, protrusão umbilical, aparente hipertrofia muscular, flebomegalia, aumento do volume abdominal, macrogenitossomia.

A LGC tem baixa prevalência, acometendo 1 para 10 milhões de nascidos vivos. Estudos sugerem, no entanto, que apenas um a cada quatro casos seja relatado. Patni e Garg (2015), afirmam que existem em torno de 300 a 500 casos descritos na literatura médica. No mundo, existe maior concentração da síndrome em países como Líbano, Portugal, Omã, Escandinávia e Brasil, bem como em famílias com ancestrais africanos, com prevalência estimada de 1:25.000 até 1:1.000.000 (MAGRE *et al.*, 2001; RAJAB *et al.*, 2005; NOLIS, 2014). Estima-se que há 1 caso da síndrome para cada 1 milhão de habitantes na Noruega; 1 para 500.000 habitantes em Portugal e 1 caso para cada 25.000 habitantes no Sultanato de Omã (MALDERGEM *et al.*, 2012).

Estima-se que no Brasil existe aproximadamente 100 pacientes em acompanhamento em serviços especializados, porém, nem todos os casos estão publicados (FIGUEIREDO FILHO *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2016). A maioria dos pacientes descritos são procedentes de estados do Nordeste (FARIA *et al.*, 2009). Acredita-se que este fato se deve à casamentos consanguíneos, que não são raros, ocorrendo em cerca de 10% da população mundial, e frequentes nessa região do país (BITTLES; BLACK, 2010; VAN MALDERGEM *et al.*, 2002).

1.1.2 Etiologia, apresentação clínica e diagnóstico

Com características clínicas e fenotípicas bem definidas, a síndrome pode ser diagnosticada ao nascimento ou ainda na primeira infância (BERARDINELLI, 1954; SEIP, 1959; GARG, 2004). Apesar da importância da análise genética, o diagnóstico da síndrome pode ser feito a partir de critérios clínicos (Tabela 1).

Tabela 1. Critérios para o diagnóstico da lipodistrofia generalizada congênita

Critérios diagnósticos para LGC:
Critérios essenciais:
1. Ausência total ou quase total do tecido adiposo subcutâneo (tronco, membros e face) e hipertrofia muscular das extremidades (pseudo-hipertrofia muscular), presentes ao nascimento ou logo após.
2. Padrões característicos de distribuição de gordura corporal no exame físico e RNM corporal consistente com os diferentes subtipos de LGC
Critérios confirmatórios:
1. Diagnóstico molecular baseado no estudo genético
Características clínicas LGC:
1. Hipertrofia muscular das extremidades
2. Veias subcutâneas superficiais proeminentes
3. Crescimento acelerado
4. Apetite voraz
5. Proeminência do umbigo ou hérnias umbilicais
6. Hepatomegalia e / ou esplenomegalia
7. <i>Acanthosis nigricans</i>
8. Hirsutismo leve e clitoromegalia em pacientes do sexo feminino
9. Períodos menstruais irregulares com ovários policísticos
10. Idade óssea avançada

Fonte: Adaptada de PATNI; GARG, Nat. Rev. Endocrinol., v. 11, n. 9, p. 522-534, Sept. 2015.
LGC = Lipodistrofia Generalizada Congênita. RNM = ressonância nuclear magnética.

A escassez de tecido subcutâneo, gera proeminência na musculatura esquelética e nas veias superficiais, o que proporciona características físicas peculiares da síndrome e podem chamar a atenção do avaliador ainda nos primeiros anos de vida. Apesar de muitas vezes ser descrita como hipertrofia, o estudo morfológico e funcional da musculatura esquelética de pacientes com LGC sugere que a característica massa muscular acentuada seja decorrente de um processo hiperplásico, e não hipertrófico, sem qualquer associação com aumento de força (GARG *et al.*, 2000).

Apetite voraz, crescimento linear acelerado, idade óssea avançada, *acanthosis nigricans*, características acromegalóides em extremidades e face, organomegalias em fígado e baço com abdômen protuso, linfadenomegalias, protusão umbilical, flebomegalia, macroglossia, hipertricose e lesões ósseas também podem estar presentes na avaliação (PATNI; GARG, 2015; GARG, 2015a).

Ressalta-se que a hepatoesplenomegalia, frequentemente associada à alterações nas provas de função hepática, pode estar associada à aumento do conteúdo de triglicérides e glicogênio no interior dos hepatócitos, esteatose hepática, e pode evoluir para esteato-hepatite e cirrose (VAN MALDERGEM *et al.*, 2002; AGARWAL; BARNES; GARG, 2004). As pacientes do sexo feminino podem apresentar, ainda,

hirsutismo, clitoromegalia, irregularidade menstrual, síndrome dos ovários policísticos, menarca e pubarca precoces (PATNI; GARG, 2015; GARG, 2015a).

As diversas manifestações clínicas clássicas da doença têm com principal fator causal o comprometimento da função de armazenamento e da atividade metabólica do tecido adiposo, responsável por sintetizar e secretar diversos hormônios, citocinas, fatores de crescimento e outros peptídeos, alterando profundamente a homeostase corporal (SIMHA; GARG, 2009; GARG, 2015b).

Os pacientes com a síndrome podem ser classificados dentre quatro subtipos clínico-moleculares, tipos 1 a 4, com genótipo e apresentação clínica peculiares (PATNI; GARG, 2015).

A LGC tipo 1 está associada a mutações no gene *AGPAT2*, que está localizado no cromossomo 9q34 e codifica uma proteína homônima, 1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferase-2, que aciona a biossíntese de fosfolípidios e triglicerídeos no interior do adipócito (GARG, 2011), e pode ter papel na diferenciação adipocitária (PATNI; GARG, 2015). Pacientes com LGC tipo 1 têm preservada gordura com função mecânica, em palmas das mãos, plantas dos pés, órbitas, regiões periarticulares, períneo, vulva, região pericalicial renal e sob o couro cabeludo, no entanto, há perda de tecido adiposo metabolicamente ativo, em região subcutânea, intra-abdominal, intratorácica e medula óssea. As características acromegalóides também podem ser mais evidentes nesses pacientes (PATNI; GARG, 2015). Uma mutação inédita em *AGPAT2* foi descrita recentemente e associada à pior evolução clínica (MONTENEGRO JR. *et al.*, 2020).

A LGC tipo 2 é causada por mutações no gene *BSCL2*, localizado no cromossomo 11q13. Este é encarregado de codificar a seipina, uma proteína transmembrana presente no retículo endoplasmático. A seipina promove a fusão das gotículas lipídicas no interior do adipócito, regula a adipogênese e a síntese das gotículas lipídicas, exerce papel na modulação da diferenciação adipocitária e influencia a síntese de fosfolípidios e triglicerídeos (FEI *et al.*, 2008). Pacientes com LGC tipo 2 têm perda mais grave de tecido adiposo, incluindo tecido gorduroso metabolicamente ativo e gordura mecânica. São pacientes clinicamente mais graves, podendo evoluir com retardo mental leve e havendo, ainda, maior incidência de comprometimento cardíaco nesse subtipo. Um caso de teratozoospermia, três casos de contraturas musculares espásticas e quatro pacientes acometidos por síndrome neurodegenerativa fatal de início precoce foram relatados em indivíduos com mutações no gene *BSCL2* (PATNI; GARG, 2015).

Kim *et al.* (2008) e cols. realizaram uma triagem molecular da localização genômica em quatro indivíduos com a síndrome que não apresentavam mutações nos genes BSCL2 e AGPAT2 e identificou uma mutação homozigótica resultando em uma falta completa da proteína codificada pelo gene CAV1, identificando um novo subtipo da síndrome. A LGC tipo 3 caracteriza-se por mutação no gene CAV1, presente no cromossomo 7q31, e que codifica a caveolina-1 (KIM *et al.*, 2008). Esta proteína é o principal constituinte das cavéolas, que são microvesículas formadas a partir da invaginação da membrana celular, expressas em elevada quantidade nos adipócitos, células endoteliais e fibroblastos. Nos adipócitos, as cavéolas são responsáveis pelo transporte e armazenamento de ácidos graxos e colesterol a partir da membrana celular. A caveolina-1 mantém a integridade e a função das gotículas lipídicas, regulando o tamanho e a composição das membranas fosfolipoprotéicas das vesículas de gordura. A deficiência desta proteína afeta a diferenciação do adipócito, o transporte de lipídeos na cavéola e promove a interrupção da formação da gotícula lipídica (PATNI; GARG, 2015).

A primeira paciente com diagnóstico de LGC tipo 3 descrita tinha 20 anos de idade, brasileira, com perfil cognitivo normal, preservação de gordura de função mecânica e em medula óssea, porém com perda de tecido adiposo metabolicamente ativo. A paciente apresentava resistência à insulina e DM, diagnosticada aos 13 anos de idade, hipertrigliceridemia, megaloesôfago funcional e resistência à vitamina D. Não havia, no entanto, aceleração do crescimento linear na infância, nem achados acromegalóides (KIM *et al.*, 2008).

Recentemente, foram descritos quatro casos de pacientes, com idades entre 8 meses e 18 anos, portadores de uma nova variante homozigótica CAV1. Todos apresentavam lipodistrofia generalizada desde a infância, resistência à insulina, HDL-c baixo e/ou triglicérides elevados (KARHAN *et al.*, 2021)

A LGC tipo 4 é causada por mutações no gene PTRF, localizado no cromossomo 17q21, responsável pela codificação de uma proteína homônima, polymerase I and transcript release factor (ou cavina-1), que está envolvida na biogênese e estabilização da cavéola, regulando a expressão da caveolina 1 (GARG; AGARWAL, 2008). A cavina-1 também pode desempenhar algum papel na diferenciação do adipócito e na expansibilidade do tecido adiposo (PATNI; GARG, 2015).

Pacientes com LGC tipo 4 apresentam perda de tecido adiposo metabolicamente ativo com preservação de gordura com função mecânica e em medula óssea. Diferente do que é encontrado nos outros subtipos, a lipodistrofia pode não estar presente ao

nascimento, surgindo progressivamente ao longo da primeira infância. Miopatia congênita, com aumento dos níveis de creatinoquinase, deformidades esqueléticas, osteopenia, instabilidade atlanto-axial, estenose pilórica, arritmias atriais e ventriculares associadas ao exercício, prolongamento do intervalo QT e morte súbita tem sido relatadas (AKINCI *et al.*, 2016; PATNI; GARG, 2015). Estudo *post-mortem* sugere que a infiltração fibrogordurosa do ventrículo direito pode contribuir para a gênese da arritmia ventricular nesses pacientes (PATNI *et al.*, 2019).

Os genes AGPAT2 e BSCL2 são responsáveis pela maioria dos casos descritos (MAGRE *et al.*, 2001) e, além dos quatro genes anteriormente citados, há descrições de casos de indivíduos com características fenotípicas compatíveis com LGC que apresentam mutações nos genes PPARG e FOS (DYMENT *et al.*, 2014; KNEBEL *et al.*, 2013).

Embora o fenótipo do paciente com LGC seja bastante característico, a raridade desta doença e seu diagnóstico errôneo com condições comuns como desnutrição e forma atlética dificultam a detecção precoce dos casos. Considerando que a síndrome cursa com complicações cardiometabólicas graves e de manifestação prematura, o diagnóstico precoce pode melhorar significativamente a assistência e prognóstico desses pacientes (LIMA; DOS SANTOS; DE MELO CAMPOS, 2018).

1.2 ALTERAÇÕES METABÓLICAS EM PACIENTES COM LIPODISTROFIA GENERALIZADA CONGÊNITA

O tecido adiposo é um órgão dinâmico responsável por sintetizar e secretar uma variedade de citocinas e hormônios com importante papel na homeostase e metabolismo energético, tais como adiponectina, leptina, fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e interleucina 6 (IL-6). Na lipodistrofia, a severidade das complicações metabólicas, como resistência à insulina, diabetes mellitus, dislipidemia e esteatose hepática, é determinada pela extensão da perda de tecido adiposo (MONTENEGRO JR., *et al.*, 2002).

A incapacidade de estocar triglicerídeos no tecido adiposo, devido a perda de adipócitos funcionais, resulta em depósito excessivo de ácidos graxos em tecidos metabolicamente importantes como fígado, causando a esteatose hepática, e músculo esquelético, induzindo a resistência insulínica hepática e periférica. A menor capacidade oxidativa e de armazenamento de gordura nesses locais promove redução da utilização

de glicose pela musculatura esquelética e maior produção hepática de glicose, elevando o fluxo de ácidos graxos livres (AGLs), contribuindo para a esteatose hepática, dislipidemia e RI (GARG, 2006; GOODPASTER; KELLEY, 1998; PHILLIPS *et al.*, 1996; WAJCHENBERG, 2000). A deposição de ácidos graxos nas ilhotas de Langerhans pode alterar, ainda, a sensibilidade destas células à ação da insulina, diminuindo sua captação de glicose (SHIMOMURA *et al.*, 1999)

Os pacientes com LGC convivem com grave RI desde o nascimento, no entanto, esta pode ser inicialmente compensada pela hiperinsulinemia, possibilitando a manutenção de um estado euglicêmico por um período limitado. A progressiva deposição de amiloide nas ilhotas pancreáticas e apoptose das células beta culminam no desenvolvimento de DM e hiperglicemia franca (GARG; CHANDALIA; VUITCH, 1996; GARG, 2004).

A maioria dos pacientes desenvolve hiperinsulinemia e cerca de 45% desenvolvem DM durante a puberdade, manifestada, frequentemente, por perda de peso, polidipsia, poliúria e astenia, podendo ser o diagnóstico ainda mais precoce e com controle extremamente difícil (VAN MALDERGEM *et al.*, 2002). Os pacientes com a síndrome desenvolvem DM lipoatrófico ou DM tipo 3B, sendo a RI sua principal característica (ADA, 2010). Suas complicações (neuropatia, retinopatia, nefropatia) ocorrem com mais frequência e com menor tempo de doença (PATNI; GARG, 2015)

A redução do tecido adiposo culmina na redução da produção de adipocitocinas, como adiponectina e leptina, o que pode desencadear redução na captação da glicose (GARG, 2004) e ser considerado um fator importante na discussão da complexa fisiopatologia dos fenômenos metabólicos na síndrome.

Pesquisa publicada no ano de 2016 apresentou uma série de 44 casos acompanhados ao longo de 17 anos em um serviço de referência no Brasil e evidenciou que 69,2% dos pacientes eram diabéticos e 78,6 % apresentavam HOMA-IR maior que 2,7 e a hipoleptinemia foi um achado comum a todo o grupo estudado (LIMA *et al.*, 2016).

A leptina é responsável pela sinalização para o sistema nervoso central da reserva energética existente. Através de sua ligação à isoforma longa dos receptores específicos de leptina (LepRb) presente no núcleo arqueado do hipotálamo, o organismo consegue identificar a adequação ou inadequação dos depósitos de gordura corporal. Essa sinalização deve induzir uma resposta apropriada do sistema nervoso central sobre a ingesta alimentar e gasto energético (KELESIDIS *et al.*, 2010; BRAY; YORK, 1997). Níveis baixos de leptina, portanto, indicariam baixa reserva de tecido adiposo e

aumentariam a ingesta alimentar, como uma resposta adaptativa do organismo a esta condição (AHIMA *et al.*, 1996).

Alguns autores, inicialmente, acreditavam haver alterações nos receptores da insulina nos pacientes com LGC (SEIP; TRYGSTAD, 1996; SOVIK; TRYGSTAD, 1996). Mais tarde, outros pesquisadores passaram a acreditar que a amiloidose das ilhotas pancreáticas e a atrofia das células beta eram os únicos mecanismos responsáveis pelas alterações dos metabolismos dos carboidratos nestes pacientes, como ocorre no diabetes do tipo 2 (GARG; CHANDALIA; VUITCH, 1996; GARG, 2004; GARG, 2000). Estudos em modelos animais e humanos, entretanto, apontaram correlação entre a escassez de leptina e as alterações dos metabolismos dos carboidratos nestes pacientes (ARIOGLU *et al.*, 2002; BERG, 2000).

Estudos indicam que níveis baixos de leptina gerariam diminuição da sensibilidade global à insulina (BRAY; YORK, 1996; GARG, 2004; SHIMOMURA *et al.*, 1999), além de desviarem ácidos graxos para armazenamento no fígado, músculos esqueléticos e mesmo nas Ilhotas de Langerhans, desviando-os de outros órgãos nos quais são escassos (SHIMOMURA *et al.*, 1999; SOVIK *et al.*, 1996). Assim, na ausência de leptina haveria uma maior estocagem de tecido adiposo em locais desnecessários, prejuízo da utilização de ácidos graxos por outros tecidos e uma acentuação consequente da resistência à ação da insulina sobre a captação e metabolismo da glicose (SHIMOMURA *et al.*, 1999; GARG, 2000). Assim, leptina exógena vêm sendo utilizada em alguns países com resultados promissores no controle dos distúrbios metabólicos dos lípidos e carboidratos que caracterizam a síndrome (MARCOS-ALONSO *et al.*, 2016; CHOU *et al.*, 2013; JAVOR *et al.*, 2004; ORAL *et al.*, 2002; PETERSEN *et al.*, 2002)

Hassoun *et al.* (2009) afirmam que a adiponectina, reverte a resistência à insulina e é associada com um risco reduzido de diabetes tipo 2 em indivíduos aparentemente saudáveis. No entanto, em estados de resistência insulínica, tais como obesidade e diabetes de tipo 2, a sua expressão e os níveis circulantes são diminuídos, portanto, baixos níveis de adiponectina estão associados com um risco aumentado de resistência insulínica, "síndrome metabólica" e diabetes. Em causuística turca, todos os pacientes apresentaram hipoleptinemia grave, entretanto, evidenciou-se piores valores de adiponectina em LGC do tipo 1 e piores valores de leptina em pacientes com LGC tipo 2 (AKINCI *et al.*, 2016).

1.3 TÉCNICA ECOCARDIOGRÁFICA BIDIMENSIONAL COM *SPECKLE TRACKING*

O ecocardiograma é um exame complementar de grande valor no diagnóstico, avaliação da gravidade, planejamento terapêutico e estratificação de risco de diversas afecções do sistema cardiovascular. Trata-se de um método diagnóstico que fornece dados de anatomia e fisiologia cardíaca, de forma não invasiva, sem risco biológico, de fácil aplicação em muitas patologias cardíacas e em diversos cenários de cuidado (SILVA, 2012).

A ecocardiografia fornece a determinação quantitativa das dimensões cardíacas, massa ventricular, áreas e volumes a partir das imagens bidimensionais e/ou imagens em Modo M derivadas das imagens bidimensionais. A função sistólica é avaliada pela fração de ejeção (FE) do VE, calculada por meio de uma relação que envolve as medidas lineares de diâmetros sistólico-diastólico do VE (método de Teichholz), ou por meio da determinação e relação dos volumes do VE (método de Simpson) (LANG, 2005). A função diastólica e o estudo das valvas cardíacas são realizados através do Doppler e mapeamento do fluxo em cores (FEIGENBAUM, 1988).

Apesar de ser uma ferramenta indispensável, considerando sua aplicabilidade clínica (FEIGENBAUM, 1988; SILVA, 2012), o ECO pode não mostrar anormalidades precoces da função ventricular em pacientes com sintomas inespecíficos ou assintomáticos do ponto de vista cardiovascular. Assim, métodos diagnósticos mais sensíveis tornaram-se necessários para detectar tais alterações (CHO *et al.*, 2009).

O ST2D propicia a avaliação ecocardiográfica da deformação miocárdica nas direções longitudinal, radial e circunferencial, ao longo da sístole e da diástole ventricular. Quando avaliado pelo ultrassom, cada segmento miocárdico apresenta um padrão fixo de brilhos (*speckles*), que funciona como uma “impressão digital” do músculo. A técnica do ST2D baseia-se na capacidade do software de reconhecer e fazer o rastreamento (tracking) desse padrão de *speckles* ao longo do ciclo cardíaco, permitindo a quantificação da deformação, ou *strain*, dos segmentos ventriculares analisados (MOR-AVI, 2011)

O método fornece os valores do *strain* longitudinal de cada segmento do VE e baseado na média do *strain* dos 18 segmentos, calcula o *Strain* Global Longitudinal (SGL) do VE, expresso em porcentagem, bidimensionalmente expresso em valor negativo (D'HOOGE, J. *et al.*, 2000). O valor de referência para deformação miocárdica em adultos já está descrito na literatura, (YINGCHONCHAROEN *et al.*, 2013; LANG,

2015). No que se refere à população pediátrica, a publicação de uma metanálise que incluiu 2325 crianças e adolescentes normais, oriundos de 43 estudos realizados com diferenças marcas de equipamentos apresentou um normograma para interpretação dos resultados e trouxe mais possibilidades de utilização da técnica nessa população (LEVY *et al.*, 2016).

A redução do SGL do VE foi associada à presença de fatores de risco cardíaco, morbimortalidade cardiovascular e foi identificada como preditor independente de eventos cardiovasculares adversos em adultos (BIERING-SORENSEN *et al.*, 2017; RUSSO *et al.*, 2014). Estudos demonstraram valor prognóstico do comprometimento do strain do VE em condições como diabetes (ZOROUFIAN, 2014), hipertensão arterial (KOUZU *et al.*, 2010), hipercolesterolemia familiar em crianças (DI SALVO *et al.*, 2012), pós- transplante cardíaco (SERA *et al.*, 2014) e sepse (ORDE *et al.*, 2011).

Apesar de os valores de referência a serem considerados para a estratificação de risco ainda serem motivo de debate (PASTORE *et al.*, 2021), muitos autores encontraram o SGL como um marcador prognóstico em pacientes assintomáticos (KUZNETSOVA *et al.*, 2016; CHENG *et al.*, 2015; BIERING-SØRENSEN *et al.*, 2017; MODIN *et al.*, 2018), independentemente dos fatores de risco convencionais, com valores de referência < 18,8% para homens e < 17,4% para mulheres (MODIN *et al.*, 2019). A associação entre SGL e eventos cardiovasculares parece ser maior em pacientes do sexo masculino (BIERING-SØRENSEN *et al.*, 2017) e não hipertensos (MODIN *et al.*, 2018). Na insuficiência cardíaca, Park *et al* (2018). observaram um aumento de 5% na mortalidade paralelo a cada 1% de redução no SGL, enquanto a FE do VE não foi associada à mortalidade.

O ST2D é, assim, uma técnica ecocardiográfica avançada que permite aos profissionais da saúde avaliar a função cardíaca e detectar precocemente o dano miocárdico. A capacidade de fornecer informações prognósticas adicionais aos índices ecocardiográficos tradicionais é amplamente apoiada pelas evidências disponíveis, apresentando alta viabilidade e reprodutibilidade. Seu poder prognóstico tem sido aplicado em diversos cenários clínicos cardíacos e não cardíacos, apresentando bons resultados, o que poderia estimular o interesse dos pesquisadores para o desenvolvimento de estudos de validação maiores em cada cenário clínico específico. Graças à sua evidente acurácia para a predição do desfecho e à recente padronização da imagem da deformação miocárdica, agora é possível considerar o ST2D como parte dos protocolos de

estratificação de risco para a prática clínica diária em diversos cenários clínicos (PASTORE *et al.*, 2021).

1.4 MANIFESTAÇÕES CARDIOVASCULARES EM PACIENTES COM LIPODISTROFIA GENERALIZADA CONGÊNITA

Na LGC, há relatos na literatura de diversas alterações cardiovasculares, como HVE, cardiomegalia, cardiomiopatia hipertrófica, disfunção sistólica e diastólica do VE e HAS (RÊGO *et al.*, 2010), sendo os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na gênese do adoecimento cardíaco não plenamente elucidados.

Pacientes com mutações no gene BSCL2 parecem apresentar mais manifestações cardíacas, que surgem em idade mais precoce (AGARWAL; GARG, 2006; BHAYANA *et al.*, 2002). Apesar disso, há relato na literatura de paciente com mutação do AGPAT2 que necessitou de transplante cardíaco por insuficiência cardíaca congestiva grave (LUPSA *et al.*, 2010). Já em pacientes com mutações no gene PTRF, parece haver predisposição à arritmias cardíacas como taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, intervalo QT longo e morte súbita. Em uma série de 11 pacientes com LGC tipo 4, 6 tiveram morte súbita cardíaca precoce (RAJAB, 2010).

Os primeiros relatos de manifestações cardiovasculares na LGC envolvem cardiomiopatia hipertrófica, sendo descrita como a manifestação cardiovascular mais encontrada, presente em 20 a 25% dos pacientes (VAN MALDERGEM *et al.*, 2002). Ressalta-se que, apesar de o termo “cardiomiopatia hipertrófica” ser amplamente usado na literatura para descrever o achado na síndrome, encontramos nesses pacientes hipertrofia ventricular com função sistólica preservada e relaxamento diminuído, sem, no entanto, haver rearranjo das fibras miocárdicas (VIEGAS *et al.*, 2000). Viegas *et al.* (2000) descreveram um caso de insuficiência cardíaca descompensada devido à severa hipertrofia do ventrículo esquerdo com disfunção diastólica importante e função sistólica do VE normal ao ECO.

Rego *et al.* (2010) mostrou elevada prevalência de hipertrofia do ventrículo esquerdo (HVE), sem casos cardiomiopatia hipertrófica, em uma série de 22 pacientes jovens com LGC. A função sistólica estava alterada em apenas um paciente e não foi detectada nenhuma anormalidade na função diastólica do VE pelo ECO bidimensional,

considerando os critérios utilizados na época do estudo. Detectaram, ainda, elevada taxa de HAS e de arritmias cardíacas, avaliadas por *holter* de 24 horas.

LUPSA *et al.* (2010) evidenciou que, em uma amostra de 31 indivíduos com LGC, 53% dos indivíduos com LGC tipo 1 e 80% dos pacientes com LGC tipo 2 apresentaram HVE, com uma maior proporção de HVE moderada a grave no grupo com mutação de BSCL2, que também apresentou anormalidades eletrocardiográficas. Os autores ressaltaram que apenas 17% dos pacientes com HVE tinham HAS e sugerem que este não deve ser o mecanismo mais importante da hipertrofia ventricular. Disfunção sistólica do VE foi encontrada em 14% dos pacientes, sendo apenas um com disfunção sistólica grave, submetido à transplante cardíaco.

Eventos cardiovasculares são descritos em pacientes muito jovens, apontando para um mau prognóstico cardiovascular na síndrome. Há relato de uma paciente do sexo feminino, que aos 17 anos desenvolveu quadro de miocardiopatia dilatada com disfunção sistólica do VE após infarto do miocárdio em região inferior e apical, com as artérias coronarianas normais ao cateterismo cardíaco (KHALIFE; MOURTADA; KHALIL, 2008). Uma série de casos de 19 pacientes também apontou calcificação arterial coronariana em pacientes com a síndrome (FEIJÓ *et al.*, 2022).

Graves alterações metabólicas como elevações nos níveis de triglicerídeos e insulina com baixos níveis de HDL observadas na síndrome, favorecem a instalação de aterosclerose prematura (SANON *et al.*, 2016) e podem estar envolvidas na gênese do adoecimento cardiovascular por diferentes mecanismos. Chandalia *et al.* (1995) descreveram em achados de necrópsia de pacientes com LGC, placas de ateromas com 20% de estenose em artérias coronárias esquerda e direita. Estudos de autópsia também revelaram no exame histopatológico, leve espessamento de pequenas artérias coronárias intramurais com fibrose intimal, moderado aumento de depósito de colágeno sub endocárdico, miócitos hipertrofiados e normalmente organizados, bem como diminuição da gordura perivascular e subepicárdica (BJORNSTAD; FOERSTER; IHLEN, 1996).

Em uma revisão da literatura sobre cardiopatia da LGC, Lupsa *et al.* (2010) encontraram 12 artigos e o total de 48 pacientes com diagnóstico de LGC com diferentes achados de acometimento cardíaco. Na maioria dos casos, o diagnóstico de cardiopatia foi feito pelo ECO bidimensional e eletrocardiograma (ECG), sendo a radiografia do tórax também utilizado para avaliação de cardiomegalia. Alguns estudos, no entanto, observavam anormalidades cardíacas somente na necrópsia.

Apenas um estudo utilizou a técnica de ST2D para a avaliação de 22 pacientes com a síndrome. Através do ECO bidimensional os autores evidenciaram que 36,6% dos pacientes apresentavam disfunção diastólica, 31,8% HVE e, apesar de a FE estar preservada em todos os pacientes, 68,2% apresentaram SGL alterado (LIBERATO *et al.*, 2020)

1.5 Justificativa e relevância

A escassez de estudos que investigam disfunções cardiovasculares em pacientes com LGC e sua limitação a técnicas convencionais de avaliação da função cardíaca reforçam a necessidade da realização de novos estudos. Considerando que a síndrome envolve disfunções metabólicas graves e precoces e aumento de risco cardiovascular, o uso de estratégias avaliativas mais sensíveis, capazes de identificar alterações subclínicas nessa população é fundamental. O uso do ST2D pode contribuir para identificação de alterações cardíacas em pacientes sem manifestações clínicas cardiovasculares, permitindo o início precoce de um planejamento terapêutico capaz de reduzir a morbimortalidade nessa população. O acesso à uma das maiores casuísticas do mundo, acompanhada em um ambulatório especializado, nos permite realizar avaliação longitudinal e melhor compreender o comportamento da evolução dessa disfunção. Os pacientes podem se beneficiar de um tratamento adequado e precoce e a comunidade científica, munida de mais informações, pode escolher a estratégia terapêutica mais adequada disponível em sua região.

1.6 Hipótese

A lipodistrofia generalizada congênita pode causar precoce disfunção cardíaca subclínica que progride ao longo dos anos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a evolução da função ventricular esquerda de pacientes com Lipodistrofia Generalizada Congênita.

2.2 Objetivos específicos

- a) Realizar o estudo longitudinal da função do ventrículo esquerdo através do ECO bidimensional e do ST2D em pacientes com LGC;
- b) Avaliar a relação entre a deformação miocárdica e os parâmetros metabólicos dos pacientes com LGC;
- c) Comparar a evolução da função ventricular entre pacientes LGC com diabetes e sem diabetes.

3. MÉTODO

3.1 Tipo de estudo

Estudo longitudinal de abordagem quantitativa envolvendo população com diagnóstico clínico de LGC.

3.2 Local e período do estudo

O estudo ocorreu no Ambulatório de Lipodistrofias Herdadas e Adquiridas do Serviço de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Universitário Walter Cantídeo (HUWC) e no Laboratório de Ecodopplercardiograma do Ambulatório de Cardiologia do Hospital da Universidade Federal do Ceará (UFC)/EBSERH. Os atendimentos foram conduzidos na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) do complexo hospitalar UFC/EBSERH, localizado em Fortaleza - Ceará, no período de janeiro de 2016 a janeiro de 2022.

3.3 Aspectos éticos

A pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, aprovado sob o parecer número 1.916.387 e assumiu perante o mesmo o compromisso de seguir os preceitos éticos contidos nas diretrizes e normas de pesquisa da resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Todos os pacientes e ou responsáveis concordaram com participação no estudo e assinaram o Termo de Consentimento ou Assentimento Livre e Esclarecido.

3.4 Participantes da Pesquisa

Foram incluídos no estudo 20 pacientes em seguimento com diagnóstico clínico de LGC segundo os critérios diagnósticos propostos por PATNI & GARG (2015). Todos os pacientes eram acompanhados no ambulatório de Endocrinologia e Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário da UFC.

Os critérios de exclusão foram ausência de ritmo sinusal, arritmias, janela transtorácica acústica inadequada e pacientes que não completaram o protocolo do estudo.

3.5 Delineamento do estudo

Todos os pacientes eram acompanhados no Ambulatório de Lipodistrofias Herdadas e Adquiridas. A avaliação ecocardiográfica é um requisito anual no protocolo proposto, no entanto, dificuldades como a distância geográfica entre o centro e os municípios onde alguns pacientes residem, atividade laboral dos pacientes ou responsáveis com horário incompatível ao atendimento no serviço, perda de seguimento e o surgimento da pandemia por COVID-19 comprometeram a avaliação com a periodicidade planejada. Neste estudo foram utilizadas a primeira e última avaliações dos pacientes incluídos. No dia marcado, os pacientes foram submetidos inicialmente à coleta de sangue e à entrevista médica, onde foram coletados dados clínicos e realizado exame físico. Após alimentação, realizavam o ecodopplercardiograma.

3.6 Coleta de Dados

3.6.1 Avaliação clínica

Conforme protocolo de avaliação clínica do serviço, todos os indivíduos foram submetidos a uma entrevista médica onde foram avaliados os seguintes parâmetros: sexo, idade, idade ao diagnóstico da LGC, diagnóstico de diabetes ou outras endocrinopatias, antecedentes pessoais ou familiares de lipodistrofia, DM, HAS, dislipidemia, doenças cardiovasculares, presença e grau de consanguinidade, presença de outras doenças e uso de fármacos.

Além da avaliação clínica, os prontuários médicos foram revisados por outro pesquisador. Todos os dados foram registrados para posterior transferência para banco de dados informatizado.

3.6.1.1 Ectoscopia

Ectoscopia foi realizada em todos os pacientes para avaliação quanto às manifestações fenotípicas da LGC através de exame físico, sendo avaliada a presença de fácieis acromegalóide, flebomegalia, padrão de deposição de gordura corporal, hipertrofia muscular e *acanthosis nigricans*.

Acanthosis nigricans é definida pela presença de espessamento, hiperpigmentação e acentuação das linhas da pele, gerando aspecto grosseiro e aveludado no local afetado, sendo os mais frequentemente observados: região posterior do pescoço, axilas, face

lateral do pescoço, superfícies flexoras dos membros, região periumbilical, inframamária, mucosa oral e, em casos raros, planta dos pés e palma das mãos (SCHWARTZ, 1994)

3.6.1.2 Cálculo da área de superfície corpórea (ASC)

Peso e altura foram obtidos para fazer o cálculo da ASC pela fórmula de Dubois nos pacientes ≥ 18 anos (DU BOIS, 1989).

3.6.1.3 Mensuração da pressão arterial

A pressão arterial (PA) foi mensurada duas vezes por método auscultatório, com instrumento validado e adequadamente calibrado, com manguito de tamanho adequado (balão do manguito envolvendo no mínimo 80% do braço), realizada com os pacientes sentados tranquilamente, por no mínimo cinco minutos, em uma cadeira, com os pés apoiados no chão e o braço apoiado ao nível do coração. Considerou-se alterada a pressão arterial (PA) sistólica e/ou PA diastólica acima do percentil 95 para sexo, idade e estatura nas crianças e adolescentes e níveis pressóricos $\geq 130 \times 85$ mmHg ou uso de anti-hipertensivos nos adultos (NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION PROGRAM WORKING GROUP ON HIGH BLOOD PRESSURE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS, 2004; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2010).

3.6.2 Exames laboratoriais

Foram realizadas coletas de amostras de 15 ml de sangue para avaliação das determinações séricas de glicose de jejum, insulina basal, hemoglobina glicada (HbA1c), colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL-c), triglicerídeos (TG) e leptina. Todas as análises laboratoriais foram realizadas no LabPasteur – Diagnósticos da América (LP – DASA).

Todas as amostras de sangue foram devidamente identificadas e colhidas em jejum de 12 horas na sala de coleta de exames do ambulatório e depois centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para a separação do soro ou plasma. Após acondicionamento do soro/plasma em alíquotas, as amostras foram armazenadas (-20 °C) até a realização das análises.

As determinações séricas de CT e HDL-c foram realizadas pelo método enzimático colorimétrico (aparelho HITACHI 917®–Roche). A dosagem de TG foi

realizada pelo método GPO-PAP (aparelho HITACHI 917®–Roche). O LDL-colesterol (LDL-c) foi calculado pela fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). A dosagem de glicose foi realizada pelo método PAP colorimétrico (aparelho HITACHI 917®–Roche). A HbA1c foi dosada por cromatografia líquida de alta performance (aparelho PREMIER®–Trinity Biotech). A insulina foi determinada por eletroquimioluminescência (aparelho HITACHI®–Roche). A leptina foi dosada pelo método de enzima imunoensaio (aparelho AIKA®–Diasorin; REF: CAN-L-4260; sensibilidade: 0,5 ng/mL; coeficiente de variação: 3,7 a 5,0%). O Homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) foi calculado através da fórmula: $HOMA-IR = \text{glicemia de jejum (mmol} = \text{mg/dl} \div 18) \times \text{insulinemia de jejum (}\mu\text{U/ml)}/22,5$ (MATTHEWS *et al.*, 1985).

O diagnóstico de diabetes mellitus foi realizado de acordo com os critérios definidos pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2017). Foram considerados com diagnóstico de diabetes mellitus os indivíduos com história de duas medidas de glicose plasmática de jejum em dois dias distintos $> 126\text{mg/dL}$ ou portadores de sintomas clássicos do diabetes associado à glicemia $> 200\text{mg/dL}$ ou glicemia de 2h pós-sobrecarga de 75g de glicose $> 200\text{mg/dL}$. Nos adultos, considerou-se a presença de HbA1c $> 6,5\%$ em duas ou mais ocasiões como critério diagnóstico para diabetes.

Dislipidemia foi classificada de acordo com a Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2017 (FALUDI *et al.*, 2017), observando-se, quando indicado, os pontos de corte específicos para crianças e adolescentes (indivíduos de 0 a 19 anos), sendo considerados normais valores em jejum de CT $< 170\text{ mg/dL}$, HDL-c $> 45\text{mg/dL}$, e LDL-c $< 110\text{mg/dL}$. Para os níveis séricos de normalidade dos TG, o grupo de crianças e adolescentes foi subdividido, por faixa etária, em dois grupos: 0 a 9 anos, TG normal $< 75\text{mg/dL}$ e 10 a 19 anos, TG $< 95\text{mg/dL}$. Nos adultos, os valores considerados normais foram: CT $< 190\text{ mg/dL}$, TG $< 150\text{ mg/dL}$ e HDL $> 40\text{ mg/dL}$ em homens e $> 50\text{ mg/dL}$ em mulheres.

3.6.3 Estudo molecular

O DNA genômico foi extraído a partir de sangue periférico coletado dos pacientes com LGC através de técnicas padrões (SUBBARAYAN; SARKAR; ARDALAN, 2002). Os oligonucleotídeos utilizados para a amplificação dos éxons e regiões intrônicas marginais dos genes AGPAT2 e BSCL2 foram em parte desenhados pelos pesquisadores utilizando-se o programa Primer3 e em parte cedidos por Agarwal A., conforme

especificado no apêndice B. A amplificação foi realizada em aparelho GeneAmp PCR System 2400 (Perkin-Elmer, Cetus). Os produtos amplificados foram purificados com a utilização do Kit QIAquick PCR Purification (QIAGEN) seguido de uma reação de sequenciamento com a utilização do kit ABI Prism™ BigDye™ Terminator (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia, USA). Os produtos desta reação foram submetidos à eletroforese em sequenciador automático ABI Prism 3100 Genetic Analyzer automatic DNA sequencer Applied Biosystems, Foster City, California, USA).

3.6.4 Ecocardiograma transtorácico bidimensional

O ecocardiograma bidimensional foi realizado, por um único examinador, de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia (BANSAL *et al.*, 1980; EDWARDS; TAJIK; SEWARD, 1981; HENRY *et al.*, 1980; TAJIK *et al.*, 1978), incluiu modo M, bidimensional, Doppler pulsátil e tecidual, e feito uma média de três medidas para todas variáveis ecocardiográficas. Os equipamentos utilizados foram Vivid 7 e Vivid 9 (*General Eletrics Vingmed Ultrasound, Milwaukee, Wisconsin*®, USA), com transdutores multifrequenciais de 2-4 MHz (Vivid 7) e 5-2 MHz (Vivid 9). Durante a aquisição das imagens, os pacientes foram posicionados em decúbito lateral esquerdo, sob rotina padronizada. Todos pacientes foram submetidos à monitorização eletrocardiográfica contínua conectada ao ecocardiógrafo, com três derivações, para determinação dos ciclos cardíacos durante o exame. Os diâmetros intracavitários e a espessura das paredes do ventrículo esquerdo foram medidos pelo modo M guiado pelo bidimensional e obtidos pela incidência longitudinal da janela ecocardiográfica paraesternal esquerda. Em adultos, os parâmetros foram considerados aumentados conforme os pontos de corte determinados pelas diretrizes atuais. Em crianças e adolescentes, as dimensões cavitárias foram consideradas aumentadas quando o Z score foi > 2 (LANG *et al.*, 2015; LOPEZ *et al.*, 2014).

A massa ventricular foi estimada pela fórmula de *Devereaux* e o índice de massa do VE (IMVE) foi calculado dividindo a massa do VE pela altura^{2,7} em crianças e adolescentes (< 18 anos) e pela ASC em adultos (≥ 18 anos) (LANG *et al.*, 2015; LOPEZ *et al.*, 2014; SLUYSMANS; COLAN, 2005). Em adultos considerou-se hipertrofia do VE (HVE) quando o IMVE foi $> 95\text{g/m}^2$ em mulheres, $> 115\text{g/m}^2$ em homens (LANG *et al.*, 2015) e, em crianças e adolescentes, quando $> 51\text{g/m}^{2,7}$ (DANIELS *et al.*, 1995; SIMONE *et al.*, 1992). A função sistólica do VE foi avaliada pelo cálculo da FE e obtida

pelo método de Simpson (LANG *et al.*, 2015), sendo considerada normal > 52% para homens e > 54% para mulheres.

Para análise dos fluxos valvares, foi utilizado o Doppler pulsátil e contínuo, além do mapeamento em cores (LANG *et al.*, 2015). A avaliação da função diastólica do VE incluiu a análise de parâmetros do Doppler pulsátil transvalvar mitral (velocidades das ondas E, A, relação E/A), do Doppler tecidual do anel mitral (velocidades das ondas E septal, E lateral e relação E/ E', sendo E' o resultado da média entre os valores obtidos em anel mitral septal e lateral). O volume do átrio esquerdo (VAE) foi calculado pelo método de discos biplanar e indexado à ASC (NAGUEH *et al.*, 2016). Para os pacientes sem doença estrutural cardíaca, foi considerado disfunção diastólica, se no DT mitral a velocidade da onda E septal < 7cm/s, onda E lateral < 10cm/s, pico da velocidade do refluxo tricúspide > 2,8m/s, relação E/E' > 14 e o índice volume do átrio esquerdo (IVAE) > 34ml/m². Os pacientes com alteração estrutural cardíaca (HVE, dilatação das câmaras cardíacas ou volume aumentado) foram classificados como portadores de disfunção diastólica conforme diretrizes (NAGUEH *et al.*, 2016)

3.6.5 Estudo da Deformação Miocárdica pelo *Speckle-tracking* Bidimensional

Para aquisição das imagens bidimensionais específicas para o estudo da deformação miocárdica através da técnica de ST2D no sentido longitudinal, foram adquiridos clips da janela apical do VE nas incidências de três câmaras (3C), quatro câmaras (4C) e duas câmaras (2C), contendo três ciclos cardíacos consecutivos e o registro simultâneo do eletrocardiograma (LIMA, 2013; MOR-AVI *et al.*, 2011). Utilizou-se uma frequência de 60 a 90 quadros por segundo.

Múltiplas imagens foram capturadas no decorrer do exame, visando obter aquelas com melhor resolução espacial, uma vez que a técnica proposta é extremamente dependente da qualidade da imagem adquirida. Terminada esta aquisição, as imagens foram gravadas em mídia CD para análise off-line. Os dados obtidos foram avaliados no programa específico de análise pelo método do ST2D no próprio aparelho utilizado no exame.

Para a análise das imagens, o avaliador realizou a marcação dos pontos na face interna do VE ao nível da borda endocárdica do anel mitral e região apical. Logo após a marcação, o programa delimita de forma automática a borda endocárdica e o limite epicárdico, formando as áreas a serem analisadas, chamadas “regiões de interesse” (ROI).

Dentro destas regiões, padrões pontilhados miocárdicos (*speckles*) eram detectados e acompanhados automaticamente quadro-a-quadro ao longo do ciclo cardíaco. Uma avaliação automática da acurácia do seguimento do padrão pontilhado era fornecida pelo programa, podendo ser aceita ou não. Quando não aprovadas pelo sistema operacional do equipamento, ajustes na ROI pelo avaliador foram possíveis, propiciando um seguimento mais acurado (Fig. 2). Todo esse processo foi realizado nas três incidências apicais 3C, 4C e 2C.

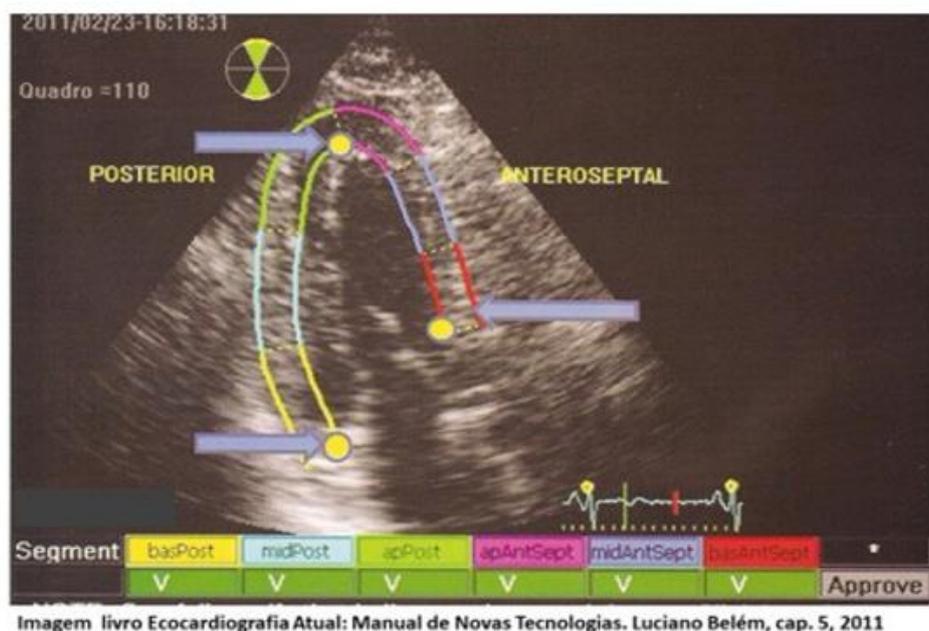


Figura 2. Marcação das bordas internas do ventrículo esquerdo para delimitar a região de interesse do miocárdio, incidência apical de 3C.

A partir das três incidências apicais padrão (3C, 4C e 2C), o ST2D mapeia e divide o VE em 18 segmentos (6 basais, 6 mediais e 6 apicais) e mede o grau de deslocamento dos *speckles* de cada segmento, este deslocamento corresponde à deformação miocárdica.

As curvas de deformação de cada incidência são geradas, representando o valor médio de todos os segmentos avaliados ao longo da sístole e diástole, e então, é calculado o *strain*, que corresponde ao percentual de deformação miocárdica (ARTIS *et al.*, 2008; DANDEL *et al.*, 2009).

O método nos fornece os valores do *strain* longitudinal de cada segmento do VE em cores e gráficos (Figura 3), e baseado na média do *strain* dos 18 segmentos, o método

calcula o *Strain* Global Longitudinal (SGL) do VE, representado no mapa polar ou *bull's eye* (Figuras 4 e 5).

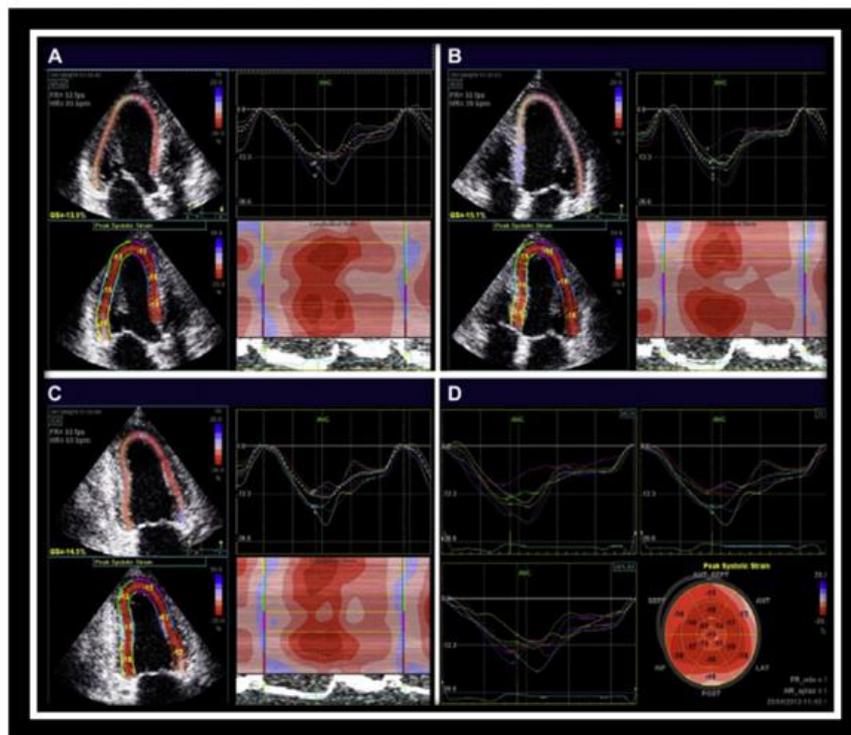


Figura 3. Escala de gráficos e cores representando o *Strain* 2D dos 18 segmentos do VE nos cortes apicais

Fonte: livro manual de novas tecnologias, BELÉM, *et al.*, cap. 5, 2011.

Notas: A= incidência apical de 3 câmaras, B = incidência apical de 4 câmaras, C = incidência apical de 2 câmaras; em A, B e C representação do *strain* longitudinal de cada segmento, imagem paramétrica e as curvas de *strain*. D = Gráficos das curvas de *strain* e mapa polar.

Apesar do método dividir o VE em 18 segmentos, o mapa polar é representado por 17 segmentos (Figura 4) conforme preconizado pela Sociedade Americana e Europeia de Ecocardiografia (LANG *et al.*, 2015), para facilitar a demonstração gráfica os segmentos apicais da parede septal-anterior e da parede posterior são considerados um segmento único.

O SGL é expresso em porcentagem, por convenção seu valor é negativo (D'HOOGHE, J. *et al.*, 2000), e quanto menor o comprimento final da fibra miocárdica, melhor a deformação miocárdica e mais negativo será seu valor. Os valores de normalidade do SGL foram considerados de acordo com o fabricante do aparelho. Para os aparelhos utilizado nesta pesquisa, o valor de referência normal para adultos é a partir

de 20% (LANG *et al.*, 2015), e para crianças e adolescentes varia conforme a faixa etária: 0-1 ano = 18,7%; 2-9 anos = 21,7%; 10-13 anos = 20%; 14-21 anos = 19,9% (LEVY *et al.*, 2016).



Figura 4. Mapa polar ou *bull's eye* apresentando os valores do *strain* segmentar e *strain* global longitudinal do ventrículo esquerdo.

Fonte próprio autor: exame de um participante do estudo, F.L.C. Notas: Valores do *strain* de cada segmento do VE representados no mapa polar ou *bull's eye*. Legenda na parte inferior mostra os valores do *strain* global de 3c (LAX), 4c (A4c), 2c (A2c) e do *strain* global longitudinal (SGL)

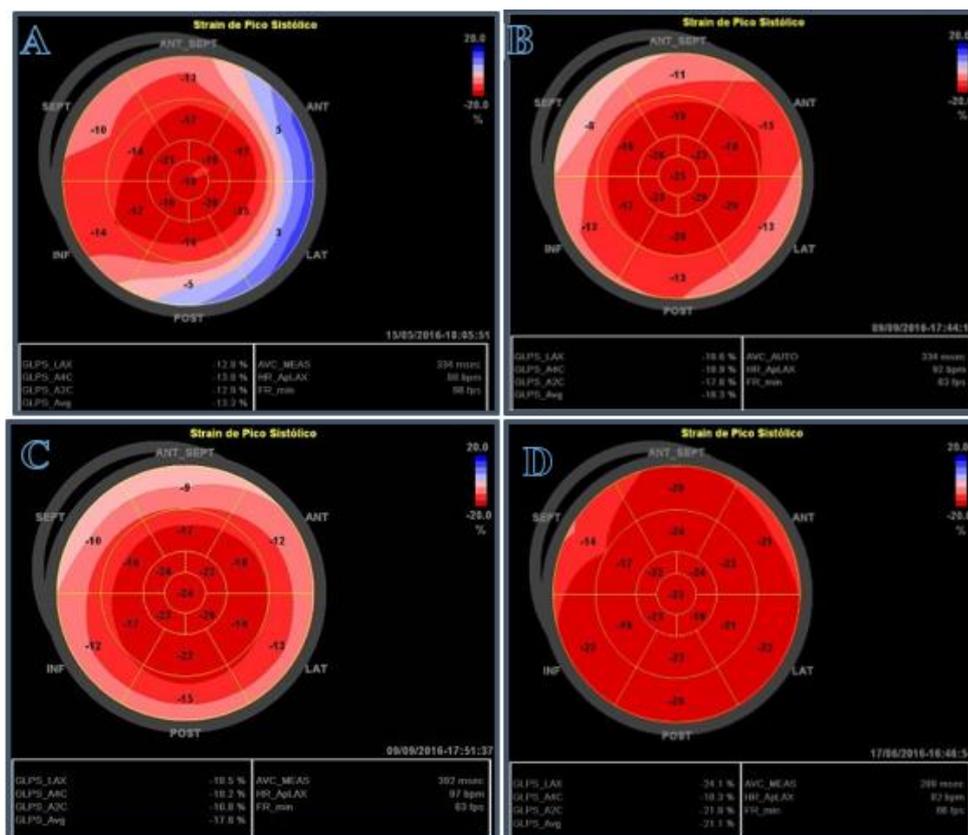


Figura 5. Mapa polar ou *bull's eye* de 04 pacientes do estudo com Lipodistrofia Generalizada Congênita

Fonte: Próprio autor, 04 pacientes do estudo Notas: **A.** RMAS, 32anos, ♀, SGL= -13,7%, **B.** DRM, 15anos, ♂, SGL = -18,3%, **C.** LCS,12anos, ♂, SGL = -17,8%, **D.** JAG, 11anos, ♂, SGL = 21,1%

3.7 Análise Estatística

A análise descritiva foi apresentada em tabelas com frequência absoluta ou relativa, ou ambas, por meio da utilização de média e desvio padrão para os dados paramétricos e mediana/intervalo interquartilico para os dados não paramétricos. A análise das características dos participantes entre o 1º e 2º exame foi realizada por meio do teste de *Wilcoxon*, verificada a não aderência dos dados à distribuição gaussiana. Para a análise da existência de correlação entre as variáveis do estudo foi calculado o coeficiente de correlação de *Spearman*. Adotou-se um nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico JAMOV 2.3. Foram considerados estatisticamente significativas comparações com p-valor < 0,05.

4. RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 20 pacientes com LGC, que tiveram seguimento com reavaliação ecocardiográfica em um intervalo médio de $51 \pm 16,4$ meses. Os participantes eram predominantemente jovens, onde 65% (n=13) tinham idade < 18 anos. A mediana da idade foi de 12 anos, variando entre 5 meses a 38 anos e 60% (n=12) eram do sexo feminino. A mediana da idade dos pacientes do grupo < 18 anos foi de 6 anos e do grupo ≥ 18 anos foi 27 anos. Todos preencheram critérios clínicos para diagnóstico de LGC, sendo 15 diagnosticados com LGC tipo 1, com mutação do gene AGPAT2 e 5 com LGC tipo 2, apresentando mutação no gene BSCL2. A idade média de diagnóstico de LGC foi de $7,4 \pm 11,1$ anos, variando entre 1 mês e 38 anos de idade. Quanto aos aspectos clínico-laboratoriais, todos os pacientes apresentavam hipoleptinemia, 60% (n=12) HDL-c baixo, 85% (n=17) hipertrigliceridemia, 75% (n=15) diabetes e 25% (n=5) tinham diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica (Tabela 1).

Tabela 1: Características clínicas e genéticas dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.

Variável	n=20
Idade (anos)	12 (5-25)
Gênero †	
Masculino	8 (40)
Feminino	12 (60)
Peso (kg) *	$50,8 \pm 15,1$
Altura (m) *	$1,55 \pm 0,2$
IMC (Kg/m²) *	$19,6 \pm 2,9$
Genótipo †	
Tipo 1 (Mutação AGPAT2)	15 (75)
Tipo 2 (Mutação BSCL2)	5 (25)
Fenótipo clínico/ Comorbidades †	
Diabetes mellitus	15 (75)

Glicemia alterada	11 (55)
Hipertrigliceridemia	15 (75)
HDL-c alterado	12 (60)
Hipertensão arterial sistêmica	5 (25)

* Dados expressos em média \pm desvio padrão; † Dados expressos em frequência relativa e absoluta; # = dados expressos em mediana e intervalo interquartilico, n= número de indivíduos; %= percentual; kg= quilogramas; cm= centímetros.

Durante o intervalo entre as duas avaliações, os pacientes não apresentaram diferenças quanto aos níveis séricos de leptina, triglicerídeos e HDL-c. No entanto, houve uma tendência à piora dos parâmetros glicêmicos ($p=0,07$) (Tabela 2).

Tabela 2: Comparação das variáveis metabólicas entre as duas avaliações dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.

Parâmetros metabólicos *	1ª avaliação	2ª avaliação	p
Leptina (ng/mL)	1,2 \pm 0,7	1,2 \pm 0,8	>0,99
Glicemia (mg/dl)	150 \pm 88	174 \pm 89	0,07
HbA1C (%)	7,6 \pm 2,7	9 \pm 3,0	0,07
Triglicerídeos (mg/dl)	315 \pm 277	335 \pm 228	0,4
HDL-c (mg/dl)	31 \pm 8,0	33 \pm 9,0	0,1

* Dados expressos em média \pm desvio padrão; %= percentual; ml= mililitros; ng= nanograma; mg= miligrama; dl= decilitro.

No que se refere à avaliação longitudinal através do ecocardiograma bidimensional, evidenciou-se piora da fração de ejeção ($p=0,009$), no entanto, todos os exames apresentam FE normal. Foram encontrados, ainda, aumento do volume diastólico do átrio esquerdo ($p=0,01$), redução do átrio esquerdo ($p=0,03$) e aumento do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo ($p=0,01$) (Tabela 3).

Tabela 3: Comparação dos dados do ecocardiograma bidimensional entre as duas avaliações dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.

Ecocardiograma bidimensional *	1ª avaliação	2ª avaliação	P
FEVE (%)	71,2 \pm 6,0	66,6 \pm 6,4	0,009
VDAE (ml/m ²)	27 \pm 7,8	31,4 \pm 7,9	0,01
AE (mm)	32,6 \pm 6,0	30,2 \pm 7,9	0,03
IMVE (g/m ² ou 2,7)	59,8 \pm 29,4	66,5 \pm 38,9	0,9

DD (mm)	42,7 ± 6,2	44,5 ± 4,8	0,17
DS (mm)	25,4 ± 4,8	28,1 ± 4,3	0,01

* Dados expressos em média ± desvio padrão; n= número de indivíduos; %= percentual; FEVE= fração de ejeção do ventrículo esquerdo; VDAE= volume diastólico do átrio esquerdo; AE= átrio esquerdo; IMVE= índice de massa do ventrículo esquerdo; DD= diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DS= diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; ml= mililitros; g=gramas; m²= metro quadrado; mm= milímetros.

No último exame, 30% (n=6) dos pacientes apresentavam hipertrofia do VE. Disfunção diastólica foi evidenciada em 20% (n=4) dos pacientes no primeiro exame e em 35% (n=7), no segundo, sendo todos com diagnóstico de DM e dois com idade menor que 18 anos (Tabela 4).

Tabela 4: Achados do ecocardiograma bidimensional entre as duas avaliações de 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita.

Variável	1ª avaliação	2ª avaliação
Ecocardiograma bidimensional *	n/%	n/%
FEVE (%) alterada	0/0	0/0
VDAE (ml/m ²) aumentado	4 /20%	6 /30%
AE (mm) aumentado	9 /45%	8 /40%
Presença de hipertrofia	4 /20%	6 /30%
DDVE (mm) aumentado	0/0	0/0
DSVE (mm) aumentado	0/0	0/0

* Dados expressos em frequência; n= número de indivíduos; %= percentual; FEVE= fração de ejeção do ventrículo esquerdo; VDAE= volume diastólico do átrio esquerdo; AE= átrio esquerdo; IMVE= índice de massa do ventrículo esquerdo; DDVE= diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE= diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; ml= mililitros; g=gramas; m²= metro quadrado; mm= milímetros.

Quando comparados os dados do ecocardiograma bidimensional dos pacientes classificados pela idade, evidenciou-se aumento do volume sistólico (p=0,01) e diastólico (p=0,02) do ventrículo esquerdo, entre as duas avaliações, no grupo com idade inferior à 18 anos. Nos maiores que 18 anos, foram encontrados piora da fração de ejeção do ventrículo esquerdo e aumento do volume diastólico do átrio esquerdo (p=0,03) (Tabela 5).

Tabela 5: Comparação dos dados do ecocardiograma bidimensional dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita, classificados pela faixa etária.

Variáveis	< 18 anos (n=13)			≥ 18 anos (n=7)		
	1ª avaliação	2ª avaliação	p	1ª avaliação	2ª avaliação	p
FEVE (%) *	72,7 ± 4,8	68,5 ± 6,5	0,07	68,4 ± 7,4	63,1 ± 4,7	0,03
VDAE (ml/m²) *	26,5 ± 8,2	30,1 ± 9,1	0,12	27,9 ± 7,6	33,9 ± 4,4	0,03
AE (mm) *	31,2 ± 7,7	28,5 ± 8,3	0,07	35,1 ± 3,7	33,3 ± 6,5	0,54
IMVE (g/m² ou 2,7) *	42,4 ± 11,5	51 ± 37,6	0,83	92,1 ± 24,4	95,4 ± 21,4	0,81
DD (mm) *	39,8 ± 5,4	43,5 ± 5,6	0,02	48,1 ± 3,2	48,1 ± 3,2	0,35
DS (mm) *	23,2 ± 3,9	26,8 ± 4,8	0,01	29,4 ± 3,7	30,1 ± 1,8	0,73

* Dados expressos em média ± desvio padrão; n= número de indivíduos; %= percentual; FEVE= fração de ejeção do ventrículo esquerdo; VDAE= volume diastólico do átrio esquerdo; AE= átrio esquerdo; IMVE= índice de massa do ventrículo esquerdo; DD= diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DS= diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; ml= mililitros; g=gramas; m²= metro quadrado; mm= milímetros.

Na primeira avaliação através da técnica do ST2D, 60% (n=12) dos pacientes apresentaram SGL reduzido. Na avaliação mais recente evidenciou-se valores de SGL reduzidos em 65% (n=13) dos pacientes com LGC, destes, 23% (n=3) tinham mutação no gene BCL2 (Tabelas 6).

Tabela 6: Características clínicas, metabólicas, genótípicas e ecocardiográficas de 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita

Paciente/ Sexo/ Genótipo	1ª AVALIAÇÃO						2ª AVALIAÇÃO					
	Idade	FE (%)	SGL (%)	SGL reduzido	Comorbidades	Medicações em uso	Idade	FE (%)	SGL (%)	SGL reduzido	Comorbidades	Medicações em uso
FLC/♂/ AGPAT2	5m	72	18,8	NÃO	RI, hipertrigliceridemia	-	5a	78	19,0	SIM	RI, hipertrigliceridemia	Metformina
KCS/♀/ AGPAT2	3a	67	21,8	NÃO	-	-	11a	64	18,0	SIM	RI, DM	Metformina, insulina
DDLV/♀/ AGPAT2	3a	76	20,2	SIM	-	-	4a	74	19,2	SIM	-	-
FMM/♀/ AGPAT2	3a	65	22,0	NÃO	-	-	5a	77	24,0	NÃO	RI, hipertrigliceridemia	-
RYT/♂/ BSCL2	4a	78	20,3	SIM	hipertrigliceridemia	-	9a	70	24,0	NÃO	RI, hipertrigliceridemia	Metformina
CMFM/♂/ AGPAT2	6a	75	18,2	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia	-	11a	61	20,5	NÃO	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina, insulina
NLG/♂/ AGPAT2	6a	75	23,4	NÃO	-	-	11a	72	24,0	NÃO	-	-
RMT/♀/ BSCL2	7a	63	16,7	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina	13a	79	19,0	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina
KEBS/♀/ AGPAT2	9a	72	19,3	SIM	RI, hipertrigliceridemia	-	13a	64	19,0	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina
ACBL/♀/ BSCL2	12a	77	21,8	NÃO	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina	16a	68	21	NÃO	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina, insulina

LCS/♂/ BSCL2	12a	69	17,8	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina, insulina, estatina	16a	69	19	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina, insulina, estatina
DRM/♂/ AGPAT2	15a	77	18,3	SIM	DM	Metformina	20a	70	16	SIM	DM, hipertrigliceridemia	Metformina, insulina, estatina
PCSF/♂/ BSCL2	17a	67	17,6	SIM	RI, DM	Metformina	21a	56	16,6	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina, insulina
LFS/♀/ AGPAT2	20a	65	21,7	NÃO	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina, fibrato	24a	64	24,2	NÃO	RI, DM, hipertrigliceridemia	Metformina
RAL/♀/ AGPAT2	21a	69	13,9	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Metformina, insulina, IECA	27a	65	17,7	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Metformina, insulina, fibrato, IECA
BMS/♀/ AGPAT2	25a	59	17,7	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Metformina, insulina, fibrato,diurético, IECA, AAS	27a	60	17,9	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Insulina, fibrato, estatina, bloqueador angiotensina II, diurético, beta bloqueador, AAS
ACLS/♀/ AGPAT2	28a	71	20,9	NÃO	RI, DM, hipertrigliceridemia,	Metformina, insulina, fibrato	32a	62	17,9	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Metformina, insulina, fibrato, beta

MCV/♂/ AGPAT2	29a	63	15,8	SIM	DM, hipertrigliceridemia	Metformina, insulina	33a	63	14,0	SIM	DM, hipertrigliceridemia	bloqueador, AAS Metformina, insulina
RMAS/♀/ AGPAT2	32a	57	16,1	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Metformina, insulina, estatina, IECA	37a	55	17,4	SIM	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Metformina, insulina, estatina, IECA
MIM/♀/ AGPAT2	38a	78	20,3	NÃO	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Metformina, insulina, bloqueador angiotensina II	41a	62	25,0	NÃO	RI, DM, hipertrigliceridemia, HAS	Metformina, insulina, bloqueador angiotensina II

* %= percentual, a= anos, m=meses, ♀= sexo feminino, ♂= sexo masculino, FE = fração de ejeção, SGL= *strain* global longitudinal, DM= diabetes mellitus, HAS= hipertensão arterial sistêmica, RI= resistência à insulina, IECA= inibidor da enzima de conversão da angiotensina, AAS= aspirina. Valores de referência do SGL para crianças e adolescentes: 0-1 ano = 18,7%; 2-9 anos = 21,7%; 10-13 anos = 20%; 14-21 anos = 19,9% (LEVY *et al.*, 2016). Valor de referência do SGL para adultos: ≥ 20% (LANG *et al.*, 2015).

Quando comparados os dados do estudo da deformação miocárdica pelo ST2D dos pacientes classificados pela idade, não se evidenciou diferença estatisticamente significativa na média do SGL entre os dois exames realizados (Tabela 7).

Tabela 7: Comparação dos dados do estudo da deformação miocárdica pelo *speckle-tracking* bidimensional dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita, classificados pela faixa etária.

Variáveis	< 18 anos (n=13)			≥ 18 anos (n=7)		
	1ª avaliação	2ª avaliação	p	1ª avaliação	2ª avaliação	p
SGL (%) *	19,9 ± 2,3	19,8 ± 2,5	0,94	18,1 ± 3	19,1 ± 4	0,46

* Dados expressos em média ± desvio padrão; SGL= *strain* global longitudinal.

Foi encontrada correlação inversa do SGL com as variáveis glicemia e hemoglobina glicada, que parece se fortalecer ao longo do tempo (Tabela 8).

Tabela 8: Correlações entre o *strain* global longitudinal (SGL) e parâmetros metabólicos dos 20 pacientes com lipodistrofia generalizada congênita nas duas avaliações.

Variáveis	SGL 1		SGL 2	
	r	p	r	p
Leptina (ng/mL)	0,50	0,06	0,50	0,1
Glicemia (mg/dl)	-0,50	0,02	-0,62	0,004
HbA1C (%)	-0,63	0,003	-0,66	0,001
Colesterol total (mg/dl)	-0,30	0,19	-0,02	0,9
Triglicerídeos (mg/dl)	-0,31	0,17	-0,35	0,13
HDL (mg/dl)	-0,32	0,17	-0,04	0,85

%= percentual; ml= mililitros; ng= nanograma; mg= miligrama; dl= decilitro; SGL1= *strain* global longitudinal na primeira avaliação; SGL 2= *strain* global longitudinal na segunda avaliação.

Nos pacientes com LGC avaliados, evidenciou-se que 65% (n=13) já tinham diagnóstico de diabetes no primeiro exame e, destes, 69,2,5% (n=9) já apresentavam SGL reduzido. No segundo exame, 75% (n=15) dos pacientes tinham diagnóstico clínico de diabetes e, destes, 73,3% (n=11) apresentavam SGL reduzido, sem disfunção sistólica

evidente no ECG bidimensional. Quando avaliada a relação entre o SGL e a presença de diabetes, controlando para o valor de triglicérides, evidenciou-se que tal comorbidade implica em decréscimo médio de 2,95% no SGL ($p=0,03$).

A comparação das variáveis ecocardiográficas entre os dois momentos da avaliação dos grupos de pacientes com diabetes demonstrou piora da FEVE ($p=0,02$), aumento do volume diastólico do átrio esquerdo (VDAE) ($p=0,005$) e aumento do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo ($p=0,02$), não sendo evidenciada diferença do SGL entre os dois momentos de avaliação (Tabela 9).

Tabela 9: Análise comparativa dos parâmetros ecocardiográficos e do *strain* global longitudinal dos 15 pacientes com Lipodistrofia generalizada congênita diabéticos.

Variáveis	1ª avaliação	2ª avaliação	p
FEVE (%) *	70,8 ± 6,05	66,1 ± 6,7	0,02
VDAE (ml/m ²) *	27,75 ± 8,3	33,3 ± 6,1	0,005
AE (mm) *	33,9 ± 5,7	32,0 ± 7,8	0,16
IMVE (g/m ² ou 2,7) *	63,1 ± 31,0	70,5 ± 39,1	0,9
DD (mm) *	43,3 ± 6,1	45,2 ± 3,9	0,16
DS (mm) *	25,8 ± 4,4	28,6 ± 4,0	0,02
SGL (%) *	18,8 ± 2,2	19,5 ± 2,7	0,35

* Dados expressos em média ± desvio padrão; n= número de indivíduos; %= percentual; ml= mililitros; g=gramas; m²= metro quadrado; mm= milímetros. FEVE= fração de ejeção do ventrículo esquerdo; VDAE= volume diastólico do átrio esquerdo; AE=átrio esquerdo; DD= diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DS= diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; SGL= *strain* global longitudinal.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro a realizar avaliação longitudinal por meio de ST2D em pacientes com LGC, evidenciando precoce disfunção ventricular esquerda, que se manteve subclínica ao longo do período estudado. A avaliação longitudinal desta população é fundamental para a compreensão da evolução clínica e criação de protocolos efetivos no manejo das complicações cardiovasculares, que se configuram como uma das principais causas de mortalidade na síndrome (BROWN *et al.*, 2016; LIMA *et al.*, 2018).

Atualmente, apenas um estudo publicado na literatura científica avaliou pacientes com LGC através desta técnica. Tratava-se de uma pesquisa que incluía a população avaliada no presente estudo e já demonstrava alterações subclínicas e precoces da função sistólica ventricular em um corte transversal (LIBETARO, C.B.R *et al.*, 2020).

Anormalidades na estrutura e função cardiovascular de pacientes com LGC já são descritas na literatura desde 1959 (SEIP, 1959), utilizando, no entanto, avaliação bidimensional, apresentadas, em sua maioria, por meio de relatos de casos (BHAYANA *et al.*, 2002; FARIA *et al.*, 2009; FRIGULS *et al.*, 2009; KHALIFE; MOURTADA; KHALIL, 2008; RAJAB *et al.*, 2010; RÊGO *et al.*, 2010; SCATTEIA *et al.*, 2016; VIEGAS *et al.*, 2000).

Avaliação de um estudo longitudinal que acompanhou 31 pacientes com LGC mostrou pelo ECO bidimensional, que a cardiomiopatia é um achado frequente nessa população. A maioria dos pacientes eram jovens e apresentavam cardiomiopatia hipertrófica, com FEVE normal e um pequeno número apresentava cardiomiopatia dilatada e disfunção sistólica ventricular (LUPSA *et al.*, 2010).

Evidenciamos em nossa população, redução numérica da FEVE ao longo do período estudado, no entanto todos os pacientes apresentaram FEVE normal ao ecocardiograma bidimensional nos dois momentos de exame, não havendo, portanto, impacto clínico no achado. Ressalta-se que a avaliação da fração de ejeção pode ser influenciada por aspectos como situação de hidratação e frequência cardíaca no momento do exame, devendo-se considerar, no entanto o valor de referência de normalidade. Apesar de nenhum paciente apresentar disfunção sistólica no exame bidimensional, 35% dos pacientes apresentavam disfunção diastólica no segundo exame.

Segundo a literatura, os pacientes com mutação em BSCL2, com apresentação clínica e disfunções metabólicas mais graves, apresentam prevalência aumentada de doença

cardíaca (AGARWAL *et al.*, 2003), o que não foi possível identificar na população do estudo, uma vez que apenas 5 dos pacientes avaliados tinham LGC tipo 2, impossibilitando análise comparativa.

A gravidade e precocidade do surgimento das alterações metabólicas podem estar envolvidas na gênese e magnitude do adoecimento cardiovascular e mortalidade cardiovascular precoce na síndrome. Na LGC, a ausência de tecido adiposo subcutâneo desde o nascimento ou na primeira infância e o consequente comprometimento da deposição normal de gordura levam ao acúmulo ectópico precoce de lipídios em tecidos como músculo, fígado, coração e parede arterial. Consequentemente, ocorrem anormalidades metabólicas graves e precoces como resistência à insulina, diabetes mellitus, esteatose hepática e doença aterosclerótica prematura (GARG, A., 2004; NELSON, M.D. *et al.*, 2013).

Ingelsson *et al.* (2006) mostraram em uma grande população que a RI está correlacionada com a incidência de insuficiência cardíaca independentemente de fatores de risco conhecidos, incluindo diabetes. A RI, grave e precoce em pacientes com a síndrome, pode, portanto, ser uma das causas para alterações cardíacas. A presença de receptores do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) no tecido cardíaco associada à hiperinsulinemia, presente na síndrome, pode causar estímulo sobre estes receptores levando ao aumento massa do VE, dilatação do coração (BHAYANA *et al.*, 2002) e, consequentemente, alteração na contração ventricular (GEFFNER; SANTULLI JR; KAPLAN, 1987; VIEGAS *et al.*, 2000).

Na RI há, ainda, inadequação energética nos cardiomiócitos, com maior uso de ácidos graxos, energeticamente menos eficientes que a glicose. Além disso, ao contrário de indivíduos saudáveis, os cardiomiócitos de pacientes com RI não são capazes de utilizar glicose em condições de estresse. Esses mecanismos, que estão associados ao comprometimento endotelial em pacientes com RI, podem contribuir para a redução tanto do desempenho cardiopulmonar (CADEDDU, C. *et al.*, 2012) quanto das reservas contráteis miocárdicas (HA, T.H. *et al.*, 2011; CADEDDU, C. *et al.*, 2013). A resistência à insulina, portanto, pode comprometer a função cardíaca, mesmo na ausência de DM.

No presente estudo, no entanto, o diagnóstico de DM, independente da hipertrigliceridemia, se mostrou também relacionado à piora do *strain*. O DM está associado ao aumento do risco de insuficiência cardíaca e doença cardiovascular, responsáveis por 2/3 da mortalidade em diabéticos, afetando o coração na forma de doença arterial coronariana, neuropatia autonômica e cardiomiopatia diabética

(PAPPACHAN *et al.*, 2013). A cardiomiopatia diabética é consequência da hiperglicemia, que acentua o estresse oxidativo e leva à deposição de colágeno intersticial, fibrose e apoptose, resultando em disfunção ventricular sistólica e diastólica (HENSEL *et al.*, 2016; ZOROUFIAN *et al.*, 2014). Na ausência de diabetes, outros distúrbios metabólicos podem estar envolvidos na gênese do adoecimento cardiovascular nesta população. Ressalta-se que pacientes com LGC convivem com distúrbios metabólicos desde cedo e por toda a vida, o que pode precipitar maior risco cardiovascular em uma população muito jovem.

Evidenciamos no presente estudo, correlação do SGL com as variáveis glicemia e hemoglobina glicada, que parece se fortalecer ao longo do tempo. Zhang, X *et al.* (2013) afirmam que o controle glicêmico inadequado, com $HbA1c \geq 7\%$, pode levar à redução de todos os componentes do *strain* sistólico do VE, o que estaria associado à disfunção pré-clínica do VE (ZHANG, X. *et al.*, 2013). No entanto, o controle glicêmico intensivo em pacientes com cardiomiopatia diabética é um assunto controverso. Lorenzo-Almoros *et al.* (2017) mostraram que o controle glicêmico intensivo ($HbA1c < 7\%$) não previne complicações cardiovasculares em pacientes com DM1, e outros estudos não encontraram associação entre níveis de HbA1c e disfunção sistólica (JĘDRZEJEWSKA, I *et al.*, 2016; LEUNG, M. *et al.*, 2016). No entanto, já estão descritas na literatura melhorias nas funções diastólica e sistólica em pacientes com maior redução nos níveis de HbA1c (LEUNG, M. *et al.*, 2016; CHEN, X *et al.*, 2020; WANG, Y. *et al.*, 2018; ARMSTRONG, A.C. *et al.*, 2017)

Apesar de não termos evidenciado uma correlação entre leptina e SGL, deve-se considerar que a leptina também pode estar envolvida na gênese do adoecimento cardiovascular, uma vez que parece exercer um efeito no metabolismo dos TG nos miócitos. Estudo demonstra que, atuando em nível central, a leptina regula o conteúdo de TG cardíaco em ratos com sensibilidade normal à leptina, aumentando a lipólise e reduzindo a lipogênese (MORA *et al.*, 2018). Todos os pacientes com LGC apresentavam hipoleptinemia e essa característica clínica clássica nessa população pode ser responsável por induzir acúmulo de TG nas células do miocárdio, justificando, em parte, alterações na morfologia cardíaca e na função ventricular. Nelson *et al.* (2013) demonstraram por ressonância magnética acúmulo três vezes maior de TG nas células miocárdicas de pacientes com LGC, condição denominada “esteatose cardíaca”, que pode levar a aumento de diâmetros, massa e volumes cardíacos, além de disfunção do VE (LEE *et al.*, 2004; SZCZEPANIAK *et al.*, 2007).

Evidenciamos que 65% da população jovem avaliada apresentava SGL reduzido na primeira avaliação e 60%, na segunda, no entanto, não evidenciamos piora *strain* global longitudinal do grupo estudado ao longo do tempo estudado. Ressaltamos, no entanto, que uma abordagem precoce pode ter sido determinante para o retardo na progressão da disfunção do ventrículo esquerdo e até melhora do SGL em alguns pacientes. Todos os pacientes eram acompanhados em um serviço de referência, com avaliação e tratamento adequados, incluindo seguimento com o médico especialista, equipe multidisciplinar e acesso a medicações e orientações comportamentais que objetivam melhora do desempenho cardiovascular e controle metabólico.

Estudos sugerem que o uso de alguns medicamentos, como a metformina, podem auxiliar na melhora dos dados de *strain*. Estudo anterior demonstrou melhora da função do VE, avaliada através de ST2D, em pacientes com resistência à insulina após 12 semanas de tratamento com metformina, sozinha ou associada à prática de atividade física (CADEDDU, C *et al.*, 2016). Em outro estudo, o uso da metformina por 6 meses aumentou a função sistólica e diastólica do VE e induziu a regressão do crescimento hipertrófico em pacientes com síndrome metabólica sem DM (VELAZQUEZ, H *et al.*, 2016). Estudo experimental sugere, ainda, que isoladamente ou em combinação com a atorvastatina, a metformina reduz a hipertrofia e o tamanho dos cardiomiócitos (YIN, M *et al.*, 2011).

Os mecanismos detalhados pelos quais a metformina exerce seus efeitos benéficos parecem estar relacionados à diminuição dos níveis de ácidos graxos livres, redução do acúmulo de lipídios no miocárdio, diminuição da fibrose perivascular e ativação do sinal AMPK-eNOS (CITTADINI, A. *et al.*, 2012). Estudos mostram que a ativação da AMPK tem ação antifibrótica, inibindo a síntese proteica, bem como o remodelamento e dilatação do VE, tendo papel benéfico no desempenho cardíaco, mesmo em modelos experimentais não diabéticos (YIN, M *et al.*, 2011).

Ponderar sobre a prescrição médica de drogas estratégicas ou intensificar as orientações da terapêutica não farmacológica pode ser possível a partir da obtenção de achados subclínicos, de importante valor prognóstico. O SGL adiciona valor preditivo incremental significativo para mortalidade em pacientes com FEVE >35%. Uma metanálise de 5.721 indivíduos em 16 estudos de várias doenças cardíacas confirmou que o SGL, comparado à FEVE, é um preditor mais forte de mortalidade por todas as causas e um fator de risco complementar para morte cardíaca, hospitalização por IC e arritmias malignas (STANTON, T.; LEANO, R.; MARWICK, T.H., 2009).

Ressalta-se que, apesar de as Recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia (2019) recomendar, como parte do exame padronizado, o uso rotineiro das técnicas de *strain* longitudinal, esta, ainda recente, é pouco utilizada na avaliação de rotina em muitos cenários de cuidados. O método já é amplamente utilizado e bem recomendado para acompanhamento de pacientes expostos à agentes quimioterápicos e identificação de disfunção ventricular na vigência do uso de drogas cardiotoxícas. Nessa situação, é possível lançar mão de estratégias cardioprotetoras, preservando ao máximo a função miocárdica nesses pacientes (PLANA *et al.*, 2014).

Não há diretrizes que recomendem o uso do ST2D na avaliação de pacientes com lipodistrofia. Na sarcoidose, que também se configura como uma doença de depósito, mesmo na ausência de sinais clínicos de envolvimento cardíaco, há piora do SGL quando comparado à indivíduos saudáveis, o que reflete o papel promissor do método na detecção de cardiopatia subclínica nesses pacientes (BARSSOUM, 2020).

Em relação aos pacientes com distúrbios metabólicos, como diabetes mellitus, o papel prognóstico da técnica não foi suficientemente investigado em coortes, no entanto, autores acreditam que disfunção do VE subclínica na doença cardiometabólica pode vir a ser a indicação mais importante para aquisição de imagens de deformação miocárdica (POTTER *et al.*, 2018). Liu *et al.* (2016) demonstrou o prognóstico incremental valor de SGL, além de dados clínicos, HbA1c e E/e', e sua boa acurácia para a predição de eventos cardiovasculares em 247 pacientes diabéticos. Em um follow-up de 6 anos detectou-se disfunção do VE subclínica em uma população com DM tipo 1, bem como a piora do SGL em ao longo do período estudado. Nesse mesmo estudo, não se evidenciou correlação entre o status metabólico e o SGL dos pacientes avaliados (RINGLE *et al.*, 2017)

Estudo anterior evidenciou disfunção do VE em mais da metade dos indivíduos assintomáticos com DM avaliados (HOLLAND *et al.*, 2010) e, em outro, aproximadamente um terço dos pacientes com DM assintomáticos tinham SGL anormal com função diastólica e FE do ventrículo esquerdo normais (ERNANDE *et al.*, 2011).

A maioria dos estudos apoia a hipótese tradicional de que a disfunção diastólica do VE é a primeira alteração funcional cardíaca no desenvolvimento da cardiomiopatia diabética (LORENZO-ALMORÓS *et al.*, 2017; NEGISHI, 2018; MOCHIZUKI. *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2016; ERNANDE *et al.*, 2017; ZHOU *et al.*, 2018). No presente estudo, a maior parte dos pacientes diabéticos apresentavam SGL reduzido, mesmo na presença de função de função diastólica preservada. Vários estudos recentes sugerem que a

disfunção sistólica subclínica medida pelo ST2D pode mesmo ocorrer antes da disfunção diastólica (JĘDRZEJEWSKA *et al.*, 2016; DERUMEAUX, 2017), ou pelo menos concomitantemente com ela (LONCAREVIC *et al.*, 2016; RINGLE *et al.*, 2017; MÁTYÁS *et al.*, 2018; LEUNG *et al.*, 2016; BONAPACE *et al.*, 2017). O SGL, portanto, pode ser um sinal mais específico e precoce de cardiomiopatia diabética do que as alterações diastólicas, bem descritas nessa população (POTTER *et al.*, 2018).

Ressalta-se que o espectro da cardiopatia diabética envolve uma progressão do coração normal para disfunção diastólica e sistólica pré-clínica do VE (detectável apenas com técnicas avançadas de imagem), seguida por evidência ecocardiográfica bidimensional de disfunção do VE (ainda clinicamente silenciosa) e, finalmente, insuficiência cardíaca sintomática (FANG, *et al.*, 2005). Nos pacientes LGC com diabetes avaliados, 69,2,5% já apresentavam SGL reduzido no primeiro exame e 73,3%, no segundo, sem disfunção sistólica evidente no ECG bidimensional.

A ausência de estudos longitudinais em pacientes com lipodistrofias a escassez de coortes que envolvem avaliação subclínica de pacientes com síndromes metabólicas não nos permite, ainda, prever, com precisão temporal, o período de exposição necessário para que o depósito de gordura ectópica e a presença de desarranjos metabólicos cursem com perda subclínica da função contrátil do VE, o que poderia nos servir como um sinal da necessidade de intervenção para prevenção de desfechos cardiovasculares desfavoráveis. Este fato reforça a necessidade de mais estudos longitudinais e inserção da avaliação ecocardiográfica com ST2D nos protocolos de avaliação clínica de rotina dessa população.

Limitações

O presente estudo foi o primeiro a avaliar de forma longitudinal a função cardíaca em pacientes com essa doença rara e o segundo a utilizar a técnica ST2D, porém apresenta algumas limitações. A primeira limitação se refere à falta de um grupo controle, comprometendo, em parte, a análise e extrapolação dos dados. A falta da realização do *strain* global radial e circunferencial do VE também se constitui como uma limitação, no entanto, estes dois parâmetros, até o momento, não foram muito explorados ou indicados na rotina clínica de avaliação. Por fim, um número relativamente pequeno de pacientes com diferentes faixas etárias e a variação no intervalo entre as avaliações dos participantes do estudo também podem representar uma limitação, dificultando a análise e a apresentação dos

dados. Ressalta-se, no entanto, que a amostra estudada representa uma das maiores casuísticas já descritas dessa população.

6 CONCLUSÕES

Neste estudo foi possível demonstrar em uma grande série de pacientes predominantemente jovens com lipodistrofia generalizada congênita, alterações precoces e subclínicas da função ventricular esquerda, através da técnica de speckle-tracking bidimensional, sendo observada disfunção diastólica em 35% dos pacientes no momento da segunda avaliação.

Na avaliação longitudinal, a primeira descrita em pacientes com essa condição, realizada em um intervalo médio de $51 \pm 16,4$ meses, evidenciou-se piora da fração de ejeção, através do ecocardiograma bidimensional, embora não sendo observada piora nos valores de *strain*. Houve, contudo, associação entre a progressão das alterações cardíacas subclínicas e mau controle glicêmico (HbA1c e glicemia), sendo o diagnóstico de diabetes relacionado à redução do *strain* global longitudinal.

7 – REFERÊNCIAS

AGARWAL, A. K.; BARNES, R. I.; GARG, A. Genetic basis of congenital generalized lipodystrophy. **International journal of obesity**, v. 28, n. 2, p. 336, 2004.

AHIMA, R.S.; PRABAKARAN, D.; MANTZOROS, C. *et al.* Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature**, v. 382, n. 6588, p. 250, 1996.

AKINCI, B.; ONAY, H.; DEMIR, T. *et al.* Natural History of Congenital Generalized Lipodystrophy: A Nationwide Study from Turkey. **J Clin Endocrinol Metab**, 2016.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, v. 33, p. S62-9, 2010. Supplement 1.

AMUNDSEN, B. H., HELLE-VALLE, T.; EDVARDBSEN, T. *et al.* Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. **J. Am. Coll. Cardiol**, v. 47, n. 4, p. 789-93, 2006.

ARIOGLU, E.; SIMHA, V.; RUIZ, E. *et al.* Leptin replacement therapy for lipodystrophy. **N Engl J Med**, v. 346, n.8, p.570-8, 2002.

ARMSTRONG, A.C.; AMBALE-VENKATESH, B.; TURKBHEY, E. *et al.* Association of Cardiovascular Risk Factors and Myocardial Fibrosis With Early Cardiac Dysfunction in Type 1 Diabetes: The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study. **Diabetes Care**, v.40, p. 405–11, 2017.

ARTIS, N. J., OXBOROUGH, D.L.; WILLIAMS, G. *et al.* Two-dimensional strain imaging: a new echocardiographic advance with research and clinical applications. **Int. J. Cardiol**, v. 123, n. 3, p. 240-8, 2008.

BANSAL, R. C.; TAJIK, A.J.; SEWARD, J.B. *et al.* Feasibility of detailed two-dimensional echocardiographic examination in adults. Prospective study of 200 patients. **Mayo. Clin. Proc**, v. 55, n. 5, p. 291-308, 1980.

BARSSOUM, K.; ALTIBI, A.M.; RAI, D. *et al.* Speckle tracking echocardiography can predict subclinical myocardial involvement in patients with sarcoidosis: A meta-analysis. **Echocardiography**, v.37, n.12, p.2061-2070, 2020.

BERARDINELLI, W. An undiagnosed endocrinometabolic syndrome: report of 2 cases. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.14, n.2, p.193- 204, 1954.

BERG, J. P. Leptin is a potent anti-diabetic in mice with lipodystrophy and insulin resistance. **Europ J Endocrinol**, v.142, p.114-6, 2000.

BHAYANA, S.; SIU, V.M.; JOUBERT, G.I. *et al.* Cardiomyopathy in congenital complete lipodystrophy. **Clin. Genet**, v.61, n. 4, p. 283-7, 2002.

BIERING-SØRENSEN, T.; BIERING-SØRENSEN, S.R.; OLSEN, F.J. *et al.* Global Longitudinal Strain by Echocardiography Predicts Long-Term Risk of Cardiovascular Morbidity and Mortality in a Low-Risk General Population: The Copenhagen City Heart Study. **Circ. Cardiovasc. Imaging**, v. 10, n. 3, p. e005521, 2017.

BITTLES, A.H.; BLACK, M.L. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Consanguinity, human evolution, and complex diseases. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.107, n. 1, p.1779-86, 2010.

BJORNSTAD, P. G.; FOERSTER, A.; IHLEN, H. Cardiac findings in generalized lipodystrophy. **Acta Paediatr. Suppl.**, v. 413, p. 39-43, 1996.

BONAPACE, S.; VALBUSA, F.; BERTOLINI, L. *et al.* Early impairment in left ventricular longitudinal systolic function is associated with an increased risk of incident atrial fibrillation in patients with type 2 diabetes. **J Diabetes Complications**, v.31, p.413–8,2017.

BRAY, G. A.; YORK, D. A. Leptin and Clinical Medicine: A New Piece in the Puzzle of Obesity. **J. Clin. Endocrinol. Metab**, v. 82, n. 9, p. 2771-2776, 1997.

BROWN, R.J.; ARAUJO-VILAR, D.; CHEUNG, P.T. *et al.* The diagnosis and management of lipodystrophy syndromes: a multi-society practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v.101, n.12, p.4500–4511, 2016.

CADEDDU, C.; NOCCO, S.; CUGUSI, L. *et al.* Effects of Metformin and Exercise Training, Alone or in Combination, on Cardiac Function in Individuals with Insulin Resistance. **Cardiol Ther**, v.5, n.1, p.63-73, 2016.

CADEDDU C, NOCCO S, DEIDDA M, *et al.* Cardiopulmonary and endothelial effects of metformin treatment in an insulin resistant population. **Int J Cardiol**, v.158, p.302–4, 2012.

CADEDDU, C.; NOCCO, S.; PIANO, D. *et al.* Early impairment of contractility reserve in patients with insulin resistance in comparison with healthy subjects. **Cardiovasc Diabetol**, p.12:66, 2013.

CAMELI, M.; MANDOLI, G.E.; SCIACCALUGA, C. *et al.* More than 10 years of speckle tracking echocardiography: still a novel technique or a definite tool for clinical practice? **Echocardiography**, v.36, n.5, p.958–970, 2019.

- CHEN, X.; GUO, H.; YANG, Q. *et al.* Quantitative Evaluation of Subclinical Left Ventricular Dysfunction in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus by Three-Dimensional Echocardiography. **Int J Cardiovasc Imaging**, v.36, n.7, p.1311-1319, 2020.
- CHENG, S.; MCCABE, E.L.; LARSON, M.G. *et al.* Distinct aspects of left ventricular mechanical function are differentially associated with cardiovascular outcomes and all-cause mortality in the community. **J Am Heart Assoc**, v.4, n.10, 2015.
- CHO, G. Y.; MARWICK, T.H.; KIM, H.S. *et al.* Global 2-dimensional strain as a new prognosticator in patients with heart failure. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 54, n. 7, p. 618-24, 2009.
- CHOU, K.; PERRY, C.M. Metreleptin: first global approval. **Drugs**, v. 73, p. 73:989–997, 2013.
- CITTADINI, A.; NAPOLI, R.; MONTI, M.G. *et al.* Metformin prevents the development of chronic heart failure in the SHHF rat model. **Diabetes**, v.61, p.944–53, 2012.
- DANDEL, M.; LEHMKUHL, H.; KNOSALLA, C. *et al.* Strain and Strain Rate Imaging by Echocardiography – Basic Concepts and Clinical Applicability. **Curr. Cardiol. Rev**, v. 5, n. 2, p. 133-48, 2009.
- DERUMEAUX, G.A. From Metabolic Exposome to Onset of Diabetic Cardiomyopathy. **JACC Cardiovasc Imaging**, v.10, p.115–7, 2017.
- D'HOOGHE, J.; HEIMDAL, A.; JAMAL, F. *et al.* Regional strain and strain rate measurements by cardiac ultrasound: principles, implementation and limitations. **Eur. J. Echocardiography**, v. 1, n. 3, p. 154-70, 2000.
- DI SALVO, G.; D'AIELLO, A.F.; CASTALDI, B. *et al.* Early left ventricular abnormalities in children with heterozygous familial hypercholesterolemia. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 25, n. 10, p. 1075-82, 2012.
- DU BOIS, D.; DU BOIS, E. F. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. **Nutrition**, v. 5, n. 5, p. 303-11; discussion 312-3, 1989.
- DYMENT, D. A.; GIBSON, W.T.; HUANG, L. *et al.* Biallelic mutations at PPARG cause a congenital, generalized lipodystrophy similar to the Berardinelli-Seip syndrome. **Eur. J. Med. Genet.**, v. 57, n. 9, p. 524-6, 2014.
- EDWARDS, W. D.; TAJIK, A. J.; SEWARD, J. B. Standardized nomenclature and anatomic basis for regional tomographic analysis of the heart. **Mayo. Clin. Proc.**, v. 56, n. 8, p. 479-97, 1981.
- ERNANDE, L.; AUDUREAU, E.; JELLIS, C.L. *et al.* Clinical Implications of Echocardiographic Phenotypes of Patients With Diabetes Mellitus. **J Am Coll Cardiol**, v.70, p.1704–16, 2017.

- ERNANDE, L.; BERGEROT, C.; RIETZSCHEL, E.R. *et al.* Diastolic dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus: is it really the first marker of diabetic cardiomyopathy? **J Am Soc Echocardiogr**, v.24, p.1268–75, 2011.
- FALUDI, A. A.; IZAR, M.C.O.; SARAIVA, J.F.K. *et al.* Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. **Arq. Bras. Cardiol**, v. 109, p. 1-76, 2017. Supplement 2-1.
- FANG, Z. Y.; SCHULL-MEADE, R.; DOWNEY, M. *et al.* Determinants of subclinical diabetic heart disease. **Diabetologia**, v.48, n. 2, p.394-402, 2005.
- FARIA, C. A.; MORAES, R.S.; SOBRAL-FILHO, D.C. *et al.* Autonomic modulation in patients with congenital generalized lipodystrophy (Berardinelli-Seip syndrome). **Europace**, v. 11, n. 6, p. 763-9, 2009.
- FEI, W.; SHUI, G.; GAETA, B. *et al.* Fld1p, a functional homologue of human seipin, regulates the size of lipid droplets in yeast. **J. Cell. Biol**, v. 180, n. 3, p. 473-82, 2008.
- FEIGENBAUM, H. Digital recording, display, and storage of echocardiograms. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 1, n. 5, p. 378-383, 1988.
- FEIJÓ, B.M.X.C.R.R.; MENDONÇA, R.M.; EGITO, E.S.T. *et al.* Coronary arterial calcification in patients with congenital generalised lipodystrophy: A case series. **Clin Endocrinol (Oxf)**, 2022. doi: 10.1111/cen.14800. Epub ahead of print. PMID: 35864565.
- FIGUEIREDO FILHO, P. P. *et al.* Lipodistrofia generalizada congênita. **J. Pediatr**, (Rio J.), v. 80, n. 4, p. 333–336, 2004.
- FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin. Chem**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.
- FRIGULS B.; COROLEU, W.; DEL ALCAZAR, R. *et al.* Severe cardiac phenotype of Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy in an infant with homozygous E189X BSCL2 mutation. **Eur. J. Med. Genet**, v. 52, n.1, p. 14-6, 2009.
- GARG, A. Acquired And Inherited Lipodystrophies. **N Engl J Med**. v. 350, n. 12, p. 1220–1234, 2004.
- GARG, A. Adipose tissue dysfunction in obesity and lipodystrophy. **Clin. Cornerstone.**, v. 8, p. s7-s13, 2006. Supplement 4.
- GARG, A. **Lipodystrophies : Genetic and Acquired Body Fat**. v. 96, n. November 2011, p. 3313–3325, 2015b.
- GARG, A. Lipodystrophies: genetic and acquired body fat disorders. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 96, n. 11, p. 3313–3325, 2011.

GARG, A. **Lipodystrophies. In: Genetic Diagnosis of Endocrine Disorders (Second Edition)**. [s.l.] Elsevier, p. 325–33, 2015a.

GARG, A.; AGARWAL, A. K. Caveolin-1: a new locus for human lipodystrophy. **J. Clin. Endocrinol. Metab**, v. 93, n. 4, p. 1183-5, 2008.

GARG, A.; CHANDALIA, M.; VUITCH, F. Severe islet amyloidosis in congenital generalized lipodystrophy. **Diabetes Care**, v. 19, n. 1, p. 28–31, 1996.

GARG, A.; MISRA, A. Lipodystrophies: rare disorders causing metabolic syndrome. **Endocrinol. Metab. Clin North Am**, v. 33, n. 2, p. 305-31, 2004.

GARG, A.; STRAY-GUNDERSEN, J.; PARSONS, D. *et al.* Skeletal muscle morphology and exercise response in congenital generalized lipodystrophy. **Diabetes Care**, v.23, p.1545-50, 2000.

GEFFNER, M. E.; SANTULLI JR, T. V.; KAPLAN, S. A. Hypertrophic cardiomyopathy in total lipodystrophy: insulin action in the face of insulin resistance? **J. Pediatr**, v. 110, n. 1, p. 161, 1987.

GOODPASTER, B. H.; KELLEY, D. E. Role of muscle in triglyceride metabolism. **Curr. Opin. Lipidol**, v. 9, n. 3, p. 231-6, 1998.

HA, T.H.; SEO, H-S.; CHOO, W.J. *et al.* The effect of metabolic syndrome on myocardial contractile reserve during exercise in non-diabetic hypertensive subjects. **J Cardiovasc Ultrasound**, v.19, p.176–82, 2011.

HASSOUN, P.M.; MOUTHON, L.; BARBERA, J.A. *et al.* Inflammation, growth factors, and pulmonary vascular remodeling. **J Am Coll Cardiol**, v.54, p. S10 –S19, 2009.

HAYCOCK, G. B.; SCHWARTZ, G. J.; WISOTSKY, D. H. Geometric method for measuring body surface area: a height-weight formula validated in infants, children, and adults. **J. Pediatr**, v. 93, n. 1, p. 62-6, 1978.

HENRY, W. L.; DEMARIA, A.; GRAMIAK, R. *et al.* Report of the American Society of Echocardiography Committee on Nomenclature and Standards in Two-dimensional Echocardiography. **Circulation**, v. 62, n. 2, p. 212-7, 1980.

HENSEL, K. O.; GRIMMER, F.; ROSKOPF, M. *et al.* Subclinical Alterations of Cardiac Mechanics Present Early in the Course of Pediatric Type 1 Diabetes Mellitus: A Prospective Blinded Speckle Tracking Stress Echocardiography Study. **J. Diabetes Res**, v. 2016, p. 2583747, 2016.

HOLLAND, D.J., MARWICK, T.H. *et al.* Subclinical LV dysfunction and 10-year outcomes in type 2 diabetes mellitus. **Heart**, v.101, p.1061–6, 2015.

KIENCKE, S.; HANDSCHIN, R.; VON DAHLEN, R. *et al.* Pre-clinical diabetic cardiomyopathy: prevalence, screening, and outcome. **Eur J Heart Fail**, v.12, p. 951–7, 2010.

KUZNETSOVA, T.; CAUWENBERGHS, N.; KNEZ, J. *et al.* Additive prognostic value of left ventricular systolic dysfunction in a population-based cohort. **Circ Cardiovasc**, v.9, n.7, 2016.

HUSSAIN, I.; PATNI, N.; GARG, A. Lipodystrophies, dyslipidaemias and atherosclerotic cardiovascular disease. **Pathology**, v.51, n.2, p.202–12, 2018.

HSU, R.H.; DE, L.W.; CHAO, M.C. *et al.* Congenital generalized lipodystrophy in Taiwan. **J Formos Med Assoc**, v.118, v.142–7, 2019.

INGELSSON, E.; ARNLOV, J.; LIND, L. *et al.* Metabolic syndrome and risk for heart failure in middle-aged men. **Heart**, v.92, p.1409–13, 2006.

JAVOR, E.D.; MORAN, S.A.; YOUNG, J.R. *et al.* Proteinuric nephropathy in acquired and congenital generalized lipodystrophy: baseline characteristics and course during recombinant leptin therapy. **J Clin Endocrinol Metab**, v.89, p.3199–3207, 2004.

JĘDRZEJEWSKA, I.; KRÓL, W.; ŚWIATOWIEC, A. *et al.* Left and right ventricular systolic function impairment in type 1 diabetic young adults assessed by 2D speckle tracking echocardiography. **Eur Heart J Cardiovasc Imaging**, v.17, p.438–46, 2016.

KHALIFE, W. I.; MOURTADA, M. C.; KHALIL, J. Dilated cardiomyopathy and myocardial infarction secondary to congenital generalized lipodystrophy. **Tex. Heart Inst. J.**, v. 35, n. 2, p. 196-9, 2008

KARHAN, A. N., ZAMMOURI, J., AUCLAIR, M. *et al.* Biallelic CAV1 null variants induce congenital generalized lipodystrophy with achalasia, **European Journal of Endocrinology**, v. 185, n.6, p. 841-854, 2021.

KELESIDIS, T.; KELESIDIS, I.; CHOU, S. *et al.* Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. **Annals of internal medicine**, v. 152, n. 2, p. 93–100, 2010.

KIM, C.A.; DELÉPINE, M.; BOUTET, E. Association of a homozygous nonsense caveolin-1 mutation with Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy. **J Clin Endocrinol Metab**, v.93, n.4, p.1129-34, 2008.

KOUZU, H.; YUDA, S.; MURANAKA, A. *et al.* Left ventricular hypertrophy causes different changes in longitudinal, radial, and circumferential mechanics in patients with hypertension: a two-dimensional speckle tracking study. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 24, n. 2, p. 192-9, 2011.

KNEBEL, B.; KOTZKA, J.; LEHR, S. *et al.* A mutation in the c-Fos gene associated with congenital generalized lipodystrophy. **Orphanet. J. Rare. Dis.**, v. 8, p. 119, 2013.

LANG, R. M.; BADANO, L.P.; MOR-AVI, V. *et al.* Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 28, n. 1, p. 1-39, 2015.

LEUNG, M.; WONG, V.W.; HUDSON, M. *et al.* Impact of Improved Glycemic Control on Cardiac Function in Type 2 Diabetes Mellitus. **Circ Cardiovasc Imaging**, v.9, p.1–10, 2016.

LEUNG, M.; XIE, M.; DURMUSH, E. *et al.* Weight Loss with Sleeve Gastrectomy in Obese Type 2 Diabetes Mellitus: Impact on Cardiac Function. **Obes Surg**, v.26, p.321–6, 2016.

LEVY, P. T.; MACHEFSKY, A.; SANCHEZ, A.A. *et al.* **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 29, n. 3, p. 209-25, 2016.

LIBERATO, C.B.R.; OLEGARIO, N.B.C.; FERNANDES, V.O. *et al.* Early Left Ventricular Systolic Dysfunction Detected by Two-Dimensional Reference Ranges of Left Ventricular Strain Measures by Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. Speckle-Tracking Echocardiography in Young Patients with Congenital Generalized Lipodystrophy. **Diabetes Metab Syndr Obes**, v.13, n.13, p.107-115, 2020.

LIMA, J.G.; DOS SANTOS, M.C.F.; DE MELO CAMPOS, J.T.A. Congenital Generalized Lipodystrophy. **J Rare Dis Res Treat**, v.3, n.2, p.1-6, 2018.

LIMA, M. S. M. **Estudo da dinâmica de contração do ventrículo esquerdo pela técnica de speckle tracking em doença de Chagas**. 2013. 120 f. Tese (Doutorado em Medicina). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

LIMA, J.G.; NOBREGA, L.H.C.; LIMA, N.N. *et al.* Causes of death in patients with Berardinelli-Seip congenital generalized lipodystrophy. **PLoS ONE**, v.13, n.6, e0199052, 2018.

LIMA, J. G.; NOBREGA, L.H.C.; LIMA, N.N. *et al.* Clinical and laboratory data of a large series of patients with congenital generalized lipodystrophy. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, p. 1–7, 2016.

LIU, J.H.; CHEN, Y.; YUEN, M. *et al.* Incremental prognostic value of global longitudinal strain in patients with type 2 diabetes mellitus. **Cardiovasc Diabetol**, v.15, p.22, 2016.

LIU, X-Y.; LIU, F-C.; DENG C-Y., *et al.* Left ventricular deformation associated with cardiomyocyte Ca²⁺ transients delay in early stage of low-dose of STZ and high-fat diet induced type 2 diabetic rats. **BMC Cardiovasc Disord**, v.16, p.41, 2016.

- LONCAREVIC, B.; TRIFUNOVIC, D.; SOLDATOVIC, I. *et al.* Silent diabetic cardiomyopathy in everyday practice: A clinical and echocardiographic study. **BMC Cardiovasc Disord**, v.16, p.1–11, 2016.
- LOPEZ, L. *et al.* Recomendações para os médicos de quantificação durante a realização do ecocardiograma pediátrico: Relatório escrito pelo grupo da Sociedade Americana de Ecocardiografia e do Conselho em Cardiopatias Congênitas. **ABC Imagem Cardiovasc.**, v. 27, n. 3, p. 151-183, 2014.
- LORENZO-ALMORÓS, A.; TUÑÓN, J.; OREJAS, M. *et al.* Diagnostic approaches for diabetic cardiomyopathy. **Cardiovasc Diabetol**, v.16, p.1–14, 2017.
- LUPSA, B. C.; SACHDEV, V.; LUNGU, A.O. *et al.* Cardiomyopathy in congenital and acquired generalized lipodystrophy: a clinical assessment. **Medicine (Baltimore)**, v. 89, n. 4, p. 245-50, 2010.
- MAGRE, J.; DELÉPINE, M.; KHALLOUF, E. *et al.* Identification of the gene altered in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy on chromosome 11q13. **Nat. Genet.**, v. 28, n. 4, p. 365-70, 2001.
- MALDERGEM, L. V.; MAGRE, J.; KHALLOUF, T. *et al.* Genotype-phenotype relationships in berardinelli-seip congenital lipodystrophy. *Journal of medical genetics*, **BMJ Publishing Group Ltd**, v. 39, n. 10, p. 722–733, 2002.
- MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J.P., RUDENSKI, A.S. *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia.**, v. 28, n. 7, p. 412-9, 1985.
- MÁTYÁS, C.; KOVÁCS, A.; NÉMETH, B.T. *et al.* Comparison of speckle-tracking echocardiography with invasive hemodynamics for the detection of characteristic cardiac dysfunction in type-1 and type-2 diabetic rat models. **Cardiovasc Diabetol**, v.17, p.1–13, 2018.
- MITCHELL, C; RAHKO, P. S., BLAUWET, L. *et al.* Guidelines for performing a comprehensive transthoracic echocardiographic examination in adults: recommendations from the American Society of Echocardiography. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 32, n. 1, p. 1-64, 2019.
- MOCHIZUKI, Y.; TANAKA, H.; MATSUMOTO, K. *et al.* Impact of left ventricular longitudinal functional mechanics on the progression of diastolic function in diabetes mellitus. **Int J Cardiovasc Imaging**, v.33, p.1905–14, 2017.
- MODIN, D.; BIERING-SØRENSEN, S.R.; MOGELVANG, R. *et al.* Prognostic value of echocardiography in hypertensive versus nonhypertensive participants from the general population. **Hypertension**, v.71, n4, p.742–751, 2018.
- MODIN, D.; BIERING-SØRENSEN, S.R.; MØGELVANG, R. Prognostic value of left atrial strain in predicting cardiovascular morbidity and mortality in the general population. **Eur Heart J Cardiovasc Imaging**, v.20, n.7, p.804–815, 2019.

- MONTENEGRO JUNIOR, R.M., LIMA, G.E.D.P., FERNANDES, V.O. *et al.* Leu124Serfs*26, a novel AGPAT2 mutation in congenital generalized lipodystrophy with early cardiovascular complications. **Diabetol Metab Syndr**, 12, 28, 2020.
- MONTENEGRO JR., R.M.; MONTENEGRO, A.P.D.R.; FERNANDES M.I.M. *et al.* Triglyceride-induced diabetes mellitus in congenital generalized lipodystrophy. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v.15, p. 441-447, 2002.
- MORA, C.; PINTADO, C.; RUBIO, B. *et al.* Central leptin regulates heart lipid content by selectively increasing PPAR beta/delta expression. **J. Endocrinol.**, v. 236, n. 1, p. 43-56, 2018.
- MOR-AVI, V.; LANG, R.M.; BADANO, L.P. *et al.* Current and evolving echocardiographic techniques for the quantitative evaluation of cardiac mechanics: ASE/EAE consensus statement on methodology and indications endorsed by the Japanese Society of Echocardiography. **J. Am. Soc. Echocardiogr**, v. 24, n. 3, p.277-313, 2011.
- NAGUEH, S. F.; SMISETH, O.A.; APPLETON, C.P. *et al.* Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 29, n. 4, p. 277-314, 2016.
- NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION PROGRAM WORKING GROUP ON HIGH BLOOD PRESSURE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS. The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. **Pediatrics**, v. 114, p. 555-76, 2004. Supplement 1.
- NEGISHI K. Echocardiographic feature of diabetic cardiomyopathy: where are we now? **Cardiovasc Diagn Ther**, v.8, p.47–56, 2018.
- NELSON, M.D., VICTOR, R.G., SZCZEPANIAK, E.W. *et al.* Cardiac steatosis and left ventricular hypertrophy in patients with generalized lipodystrophy as determined by magnetic resonance spectroscopy and imaging. **Am J Cardiol**, v.112, n.7, p.1019–1024, 2013.
- NOLIS, T. Exploring the pathophysiology behind the more common genetic and acquired lipodystrophies. **Journal of human genetics**, v. 59, n. 1, p. 16, 2014.
- ORAL, E.A.; SIMHA, V.; RUIZ, E. *et al.* Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. **N Engl J Med**, v.346, n.8, p.570–578, 2002.
- ORDE, S. R.; PULIDO, J.N.; MASAKI, M. *et al.* Outcome prediction in sepsis: speckle tracking echocardiography based assessment of myocardial function. **Crit. Care**, v. 18, n. 4, p. R149, 2014.
- PAPPACHAN, J. M.; VARUGHESE, G.I.; SRIRAMAN, R. *et al.* Diabetic cardiomyopathy: Pathophysiology, diagnostic evaluation and management. **World J. Diabetes**, v. 4, n. 5, p. 177-89, 2013.

PARK, J.J.; PARK, J.B.; PARK, J.H. *et al.* Global longitudinal strain to predict mortality in patients with acute heart failure. **J Am Coll Cardiol**, v.71, n.18, p.1947–1957, 2018.

PASTORE, M.C.; DE CARLI, G.; MANDOLI, G.E. The prognostic role of speckle tracking echocardiography in clinical practice: evidence and reference values from the literature. **Heart Fail Rev**, v.26, n.6, p.1371-1381, 2021.

PLANA, J.C.; GALDERISI, M.; BARAC, A. *et al.* Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. **J Am Soc Echocardiogr**, v.27, p.911–39, 2014.

PATNI, N.; VUITCH, F.; GARG, A. *et al.* Findings in a Young Man With Congenital Generalized Lipodystrophy, Type 4 Due to CAVIN1 Mutations. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.104, n.3, p. 957–960, 2019.

PATNI, N.; GARG, A. Congenital generalized lipodystrophies — new insights into metabolic dysfunction. **Nature Publishing Group**, 2015.

PETERSEN, K.F.; ORAL, E.A.; DUFOUR, S. *et al.* Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. **J Clin Invest**, v.109, p.1345-50, 2002.

PHILLIPS, D. I. *et al.* Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. **Metabolism**, v. 45, n. 8, p. 947-50, 1996.

PONTE, C, M.M.; FERNANDES, V.O.; LIBERATO, C.B.R. *et al.* Association between cardiovascular autonomic neuropathy and left ventricular hypertrophy in young patients with congenital generalized lipodystrophy. **Diabetol Metab Syndr**, v.11, p.53, 2019.

POTTER, E.; MARWICK, T. *et al.* Assessment of Left Ventricular Function by Echocardiography. **J Am Coll Cardiol Img**, v.11, 2018 Feb, 11 (2_Part_1) 260–274.

RAJAB, A.; BAPPAL, B.; AL-SHAIKH, H. *et al.* Common autosomal recessive diseases in Oman derived from a hospital-based registry. **Public Health Genomics**, v. 8, n. 1, p. 27–30, 2005.

RAJAB, A.; STRAUB, V.; MCCANN, L.J. *et al.* Fatal cardiac arrhythmia and long-QT syndrome in a new form of congenital generalized lipodystrophy with muscle rippling (CGL4) due to PTRF-CAVIN mutations. **PLoS Genet.**, v. 6, n. 3, e1000874, 2010.

RAJAB, A.; HEATHCOTE, K.; JOSHI, S. *et al.* Heterogeneity for congenital generalized lipodystrophy in seventeen patients from Oman. **Am. J. Med. Genet.**, v. 110, n. 3, p. 219–25, 2002.

RÊGO, A. G. D.; MESQUITA, E.T.; FARIA, C.A. *et al.* Anormalidades cardiovasculares e metabólicas em pacientes com a síndrome de Berardinelli-Seip. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 94, p. 109-118, 2010.

RINGLE, A.; DORNHORST, A.; REHMAN, M.B. *et al.* Evolution of subclinical myocardial dysfunction detected by two-dimensional and three-dimensional speckle tracking in asymptomatic type 1 diabetic patients: a long - term follow-up study. **Echo Res Pract**, v.4, p.73–81, 2017.

RUSSO, C.; JIN, Z.; ELKIND, M.S. *et al.* Prevalence and prognostic value of subclinical left ventricular systolic dysfunction by global longitudinal strain in a community-based cohort. **Eur. J. Heart Fail**, v. 16, n. 12, p. 1301-9, 2014.

SANON, V. P.; HANDELSMAN, Y.; PHAM, S.V. *et al.* Cardiac Manifestations of Congenital Generalized Lipodystrophy. **Clin. Diabetes**, v. 34, n. 4, p. 181-6, 2016.

SEIP, M. Lipodystrophy and gigantism with associated endocrine manifestations. A new diencephalic syndrome? **Acta Paediatr.**, v. 48, p. 555-74, 1959.

SERA, F.; KATO, T.S.; FARR, M. *et al.* Left ventricular longitudinal strain by speckle-tracking echocardiography is associated with treatment-requiring cardiac allograft rejection. **J. Card. Fail**, v. 20, n. 5, p. 359-64, 2014.

SCATTEIA A.; PAGANO, C.; PASCALE, C. *et al.* Asymmetric hypertrophic cardiomyopathy in generalized lipodystrophy. **Int. J. Cardiol.**, v. 202, p. 724-5, 2016.

SCHWARTZ, R. A. Acanthosis nigricans. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 31, n. 1, p. 1–19, 1994.

SEIP, M.; TRYGSTAD, O. Generalized lipodystrophy, congenital and acquired (lipoatrophy). **Acta Paediatr Suppl.**, v. 413, p. 2–28, 1996.

SHIMOMURA, I.; HAMMER, R.E.; IKEMOTO, S. *et al.* Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. **Nature**, v. 401, n. 6748, p. 73, 1999.

SILVA, C. E. S. **Ecocardiografia princípios e aplicações clínicas**. 2ª ed. Thieme Revinter: São Paulo, 2012.

SIMHA, V.; GARG, A. Phenotypic heterogeneity in body fat distribution in patients with congenital generalized lipodystrophy caused by mutations in the AGPAT2 or seipin genes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 11, p. 5433–5437, 2003.

SIMONE, G.; DANIELS, S.R.; DEVEREUX, R.B. *et al.* Left ventricular mass and body size in normotensive children and adults: assessment of allometric relations and impact of overweight. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 20, n. 5, p. 1251-60, 1992.

SLUYSMANS, T.; COLAN, S. D. Theoretical and empirical derivation of cardiovascular allometric relationships in children. **J. Appl. Physiol (1985)**, v. 99, n. 2, p. 445-57, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 95, p. 1-51, 2010. Suplemento 1.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD). **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018**. Clannad: São Paulo, 2017.

SØVIK, O.; VESTERGAARD, H.; TRYGSTAD, O. Pedersen O. Studies of insulin resistance in congenital generalized lipodystrophy. **Acta Paediatr Suppl**, v.413, p.29-37, 1996.

STANTON, T.; LEANO, R.; MARWICK, T.H. Prediction of all-cause mortality from global longitudinal speckle strain: comparison with ejection fraction and wall motion scoring. **Circ Cardiovasc Imaging**, v.2, p.356-64, 2009.

SUBBARAYAN, P. R.; SARKAR, M.; ARDALAN, B. Isolation of genomic DNA from human whole blood. **Biotechniques.**, v. 33, n. 6, p. 1221-4, 2002.

SZCZEPANIAK, L. S.; VICTOR, R.G.; ORCI, L. *et al.* Forgotten but Not Gone: the rediscovery of fatty heart, the most common unrecognized disease in america. **Circ. Res.**, v. 101, n. 8, p. 759-67, 2007.

TAJIK, A. J.; SEWARD, J.B.; HAGLER, D.J. *et al.* Two-dimensional real-time ultrasonic imaging of the heart and great vessels. Technique, image orientation, structure identification, and validation. **Mayo. Clin. Proc.**, v. 53, n. 5, p. 271-303, 1978.

VAN MALDERGEM, L.; MAGRÉ, J.; KHALLOUF, T.E. *et al.* Genotype-phenotype relationships in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy. **Journal of medical genetics**, v. 39, n. 10, p. 722-733, 2002.

VELAZQUEZ, H.; MEANEY, A.; GALEANA, C. *et al.* Metformin enhances left ventricular function in patients with metabolic syndrome. **Rev. Mex. Cardiol, México**, v. 27, n. 1, p. 16-25, marzo 2016 .

VIEGAS, R. F.; DINIZ, R.V.; VIÉGAS, T.M. *et al.* Cardiac involvement in total generalized lipodystrophy (Berardinelli- Seip syndrome). **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 75, n. 3, p. 243-8, 2000.

WAJCHENBERG, B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocr. Rev.**, v. 21, n. 6, p. 697-738, 2000.

WANG, Y.; YANG, H.; HUYNH, Q. *et al.* Diagnosis of Nonischemic Stage B Heart Failure in Type 2 Diabetes Mellitus: Optimal Parameters for Prediction of Heart Failure. **JACC Cardiovasc Imaging**, v.11, n.10, p.1390-1400, 2018.

YIN, M.; VAN DER HORST, I.C.; VAN MELLE, J.P. *et al.* Metformin improves cardiac function in a nondiabetic rat model of post-MI heart failure. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.301, p. H459-H468, 2011.

YINGCHONCHAROEN, T.; AGARWAL, S.; POPOVIĆ, Z.B. et al. Normal ranges of left ventricular strain: a meta-analysis. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 26, n. 2, p. 185-91, 2013.

ZHANG, X.; WEI, X.; LIANG, Y. *et al.* Differential changes of left ventricular myocardial deformation in diabetic patients with controlled and uncontrolled blood glucose: a three-dimensional speckle-tracking echocardiography-based study. **J Am Soc Echocardiogr**, v.26, n.5, p.499-506, 2013.

ZOROUFIAN, A.; RAZMI, T.; TAGHAVI-SHAVAZI, M. *et al.* Evaluation of subclinical left ventricular dysfunction in diabetic patients: longitudinal strain velocities and left ventricular dyssynchrony by two-dimensional speckle tracking echocardiography study. **Echocardiography**, v. 31, n. 4, p. 456-63, 2014.

ZHOU, Y.; XIAO, H.; WU, J. *et al.* Type I Diabetic Akita Mouse Model is Characterized by Abnormal Cardiac Deformation during Early Stages of Diabetic Cardiomyopathy with Speckle-Tracking Based Strain Imaging. **Cell Physiol Biochem**, v.45, p.1541-50, 2018.

APÊNDICE B – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy

Dovepress

open access to scientific and medical research

Open Access Full Text Article

ORIGINAL RESEARCH

Early Left Ventricular Systolic Dysfunction Detected by Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography in Young Patients with Congenital Generalized Lipodystrophy

This article was published in the following Dove Press journal:
Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy

Christiane Bezerra Rocha Liberato,^{1,2}
Nátalia Bitar da Cunha Olegario,^{1,2}
Virginia Oliveira Fernandes,^{1,3} Ana
Paula Dias Rangel Montenegro,² Grayce
Ellen da Cruz Paiva Lima,^{1,2} Lívia Aline
de Araújo Batista,^{1,2} Lívia
Vasconcelos Martins,^{1,2} Jaquellyne
Gurgel Penaforte-Saboia,^{1,2} Ivan
Lucas Rocha Liberato,² Larissa Ferreira
Lopes,^{1,2} Catarina Brasil d'Alva,^{1,2}
Frederico Luís Braz Furtado,^{1,2}
Ricardo Luiz De Medeiros Lima,⁴ Lucia
Helena Coelho Nóbrega,^{1,4} Josivan
Gomes Lima,⁴ Renan Magalhães
Montenegro Junior^{1,3}

Brazilian Group for the Study of
Inherited and Acquired
Lipodystrophies (BRAZLIPO)

¹Department of Clinical Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil; ²Clinical Research Unit, Walter Cantídio University Hospital, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil; ³Department of Community Health, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil; ⁴Department of Clinical Medicine, Onofre Lopes University Hospital, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil

Correspondence: Renan Magalhães Montenegro Junior Rua Professor Costa Mendes, 1608, Fortaleza, Ceará 60416-200, Brazil
Tel +55 85 3366-8600
Fax +55 85 3366-8619
Email renanmjr@gmail.com

submit your manuscript | www.dovepress.com
Dovepress
http://dx.doi.org/10.2147/DMSO.S233467

Purpose: Congenital generalized lipodystrophy (CGL) is a rare autosomal recessive disorder characterized by the absence of functional adipocytes resulting in ectopic lipid storage, metabolic disorders and early cardiovascular disease. Two-dimensional speckle-tracking (2D-STE) allows the detection of early abnormalities in myocardial function. We aimed to evaluate myocardial deformation in a large sample of CGL patients using 2D-STE.

Patients and Methods: A cross-sectional study of 22 patients with CGL and 22 healthy subjects, matched for sex and age, was conducted from 2013 to 2018. All participants had undergone standard conventional echocardiography (ECHO) and 2D-STE. Determination of blood glucose, lipids, insulin, and leptin were performed in all CGL patients.

Results: In the CGL group the mean age was 14.6±10.7 years where 68.2% (n=15) were younger than 18 years old. All the patients had hypoleptinemia, 95.4% (21/22) low HDL-c, 86.4% (19/22) hypertriglyceridemia, 68.2% (15/22) diabetes, 50% (11/22) hepatic steatosis, 41% (9/22) insulin resistance, 41% (9/22) hypercholesterolemia, and 18.2% (4/22) hypertension. ECHO showed that 36.6% (8/22) of CGL patients presented diastolic dysfunction, 31.8% (7/22) left ventricular hypertrophy (LVH), 27.3% (6/22) increased left atrial volume index (LAVI), and 18.2% (4/22) increased left ventricular systolic diameter (LVSD) but normal ejection fraction (EF), whether using 2D-STE, 68.2% (15/22) of CGL patients showed abnormal global longitudinal strain (GLS) (p<0.01), and in almost LV segments. Positive association between abnormal GLS and A1c (r=0.57, p=0.005), glucose (r=0.5, p=0.018) and basal insulin (r=0.69, p=0.024), and negative association with leptin (r=-0.51, p=0.005) were found in these patients.

Conclusion: The 2D-STE revealed precocious left ventricular systolic dysfunction in a young CGL population with normal systolic function by ECHO. Early exposure to common metabolic abnormalities as insulin resistance, hyperglycemia, and hypoleptinemia must be involved in myocardial damage in these patients.

Keywords: Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy, global longitudinal strain, cardiac function, early detection

Introduction

Congenital Generalized Lipodystrophy (CGL) is a rare autosomal recessive disease with a higher incidence in countries such as Lebanon, Portugal, Oman and Brazil. The absence of subcutaneous adipose tissue since birth or early childhood and consequent impairment of normal fat deposition lead to precocious ectopic lipid accumulation in tissues such as muscle, liver, heart and arterial wall. Consequently,

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy 2020:13 107–115

107

© 2020 Liberato et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <https://www.dovepress.com/terms.php> and incorporate the Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported, v3.0) License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>). By accessing the work you hereby accept the Terms. Non-commercial uses of the work are permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. For permission for commercial use of this work, please see paragraphs 4.2 and 5 of our Terms (<https://www.dovepress.com/terms.php>).

there are severe and precocious metabolic abnormalities as insulin resistance, diabetes mellitus, hepatic steatosis and premature atherosclerotic disease, which may lead to early cardiovascular mortality.^{1,2}

Cardiomyopathy, heart failure, systemic arterial hypertension, myocardial infarction, arrhythmias and sudden death have been described in CGL.³⁻⁵ The evaluation of heart morphology and function in this population has been performed by conventional echocardiography (ECHO). Although ECHO is the most common approach for assessing left ventricular (LV) systolic function mainly based on ejection fraction (EF), this is limited in detecting subtle abnormalities in myocardial contraction.⁶

Two-dimensional speckle-tracking echocardiography (2D-STE) is a new echocardiography technique that plays an important role in early detection of cardiac dysfunction, and more sensitive than EF to evaluate LV systolic function.⁷⁻¹¹ The 2D-STE measures myocardial deformation through the measurement of global longitudinal strain (GLS), global circumferential strain (GCS) or global radial strain (GRS).^{6,10}

Few studies have assessed cardiac function in patients with CGL, mainly case reports, and none using 2D-STE.^{3,12-17} Thus, the aim of this study was to assess myocardial deformation and detect preclinical myocardial dysfunction using 2D-STE echocardiography in a large sample of patients with generalized congenital lipodystrophy.

Materials and Methods

Study Population

This is a cross-sectional study of CGL patients from Ceará, Northeast of Brazil, conducted from January 2013 to December 2018. Patients were followed up by a multidisciplinary team of the regional reference center of the Brazilian Group for the Study of Inherited and Acquired Lipodystrophies (BRAZLIPO).

The current study is reported according to the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement.¹⁸

The inclusion criteria were CGL diagnosed according to the clinical criteria by Patni e Garg.¹⁹ Exclusion criteria were: unstable sinus rhythm, conduction and rhythm disorders, and poor acoustic windows. Patients who did not complete the study protocol were excluded.

The control group consisted of healthy and eutrophic individuals matched 1:1 according to age and gender. Healthy individuals were those without diabetes or any other metabolic disease, did not use any medication, and

did not present any episode of infection or hospitalization in the last month. Exclusion criteria were the same used for the group of patients.

Clinical and Biochemical Analysis

Clinical history was assessed through medical records, and physical examination and anthropometric measurements were performed on all the participants. In CGL group, biochemical tests were carried out after a 12 hr fasting to determine blood glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, glycohemoglobin A1c (A1c), basal insulin and leptin. The homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated in patients who did not use exogenous insulin.²⁰ Genetic testing was performed according to the previous study.²¹

Echocardiography Analysis

Standard transthoracic echocardiography study was performed using Vivid 7 and Vivid 9 (GE Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin®, USA) ultrasound machines with a 3.5-MHz transducer for harmonic imaging following the criteria established by the American Society of Echocardiography.²²⁻²⁵

Conventional Echocardiography

The values of all conventional ECHO parameters were calculated as the average value of three consecutive cardiac cycles. LV end-systolic and end-diastolic diameters, LV posterior wall and interventricular septum thickness were measured using the two-dimensional echocardiography guided M-mode method. Measurements were analyzed according to the reference values; therefore, the participants were divided into age groups: children and adolescents (<18 years of age) and adults (≥18 years of age).²⁶ Left ventricle ejection fraction (LVEF) was estimated using the Simpson method. LV mass was calculated using the Devereaux formula and indexed to the height in children and adolescents^{2,8} and to the body surface area (BSA) in adults.²⁶⁻²⁸

Pulsed-wave Doppler (PW) was used to measure mitral inflow velocities, peak early (E) and late (A) diastolic velocities, the E/A ratio, and the E-wave deceleration time. The early diastolic velocity (E') of the mitral annulus was measured at the lateral (El) and septal (Es) sites of the mitral annulus using pulsed-wave Doppler tissue imaging (DTI). The average E' value (lateral and septal sites) was used to calculate the E/E' ratio.²⁹ Left atrial volume (LAV) was calculated using the biplane disk summation technique and then

indexed to the BSA.³⁰ In addition, Color Doppler flow imaging was used for mapping valvar regurgitation.

Speckle Tracking Echocardiography

To obtain specific 2D images using STE, digital loops with three successive cardiac cycles were acquired from LV apical 2-chamber (2C), 3-chamber (3C) and 4-chamber (4C) views. The frame rate for these recordings was set at 60 to 90 frames/s.^{31,32} After selecting the best-quality two-dimensional image of the cardiac cycle, the LV endocardial border was manually traced at the end-systolic frame. After that, a speckle-tracking region of interest was automatically selected to approximate the myocardium between the endocardium and epicardium. The width of the region of interest was adjusted as necessary to accommodate the total thickness of the LV wall. The LV was divided into 18 segments: 3 levels (basal, mid-cavity and apical), which were further divided into 6 segments (anterior, posterior, lateral, inferior, septal, and anteroseptal). Longitudinal strains for each individual segment were measured and expressed as a bull's-eye, and the software calculated GLS by averaging local strains along the entire LV.^{33,34} More negative strain values represent an increased contraction of the myocardium. Normal values of GLS were stratified by age distribution (years) according to references ranges.^{30,35}

Statistical Analysis

Data were analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 17.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Descriptive analysis was presented in tables with frequency and percentage for categorical variables and mean and standard deviation for numerical variables. Fisher's exact test, Pearson's chi-squared test and Spearman correlation coefficient were used to check for associations between the studied variables. Student's *t*-test or Mann-Whitney test were used to compare means. The normality of data was tested using the Shapiro-Wilk test. A *p*-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Clinical and Metabolic Characteristics of the CGL Group

Twenty-two patients with a clinical diagnosis of CGL were evaluated. The mean age was 14.6±10.7 years, 68.2% (15/22) were younger than 18 years old, and 59% (13/22) were women. The mean age of participants in the group <18 years was 8.3 ± 4.7 years, and in the group ≥ 18 years was 28.0±6.2 years. The mean age at CGL diagnosis was 7.4±11.1 years, ranging from 1

month to 38 years of age. All the patients had hypoleptinemia, 95.4% (21/22) had low HDL-c, 86.4% (9/22) had hypertriglyceridemia, 68.2% (15/22) diabetes, 50% (11/22) hepatic steatosis, 41% (9/22) insulin resistance, 41% (9/22) hypercholesterolemia, and 18.2% (4/22) hypertension. Genetic analysis was performed in only 45.4% (10/22) of the patients. *AGPAT2* and *BSCL2* gene mutations were identified in 40% (4/10) and 60% (6/10) of them, respectively.

Conventional Echocardiographic Assessment of the CGL and Control Groups

In CGL group, 32% (7/22) presented left ventricular hypertrophy (LVH), 27.3% (6/22) had increased left atrial volume index (LAVI), 18.2% (4/22) had increased LV end-systolic diameter (LVDS) and 4.5% (1/22) had increased LV end-diastolic diameter (LVDD).

Patients with CGL had increased LAVI (*p* < 0.01) and increased left ventricular mass index (LVMI) compared to the control group (*p* < 0.01). LVEF was normal in all participants. Diastolic function was abnormal in 36.6% (8/22) in CGL group, and normal in the control group. The velocities of E, Es and E1 waves were significantly lower in the CGL patients ≥18 years of age than the control group (Table 1).

There were few morphological valve abnormalities in CGL patients. Mild mitral valvar regurgitation was detected in 18.2% (4/22) using Doppler color flow imaging in CGL group. Few CGL patients presented mild tricuspid regurgitation (3/22), and mild aortic regurgitation (1/22). All these patients were women and 75% (3/4) were aged <18 years.

Global Longitudinal Strain of the CGL and Control Groups

The 2D-STE detected abnormal GLS in 68.2% (15/22) of CGL patients. The proportion of CGL patients with abnormal GLS according to the age range is shown in Table 2. These alterations were not observed in the control group (*p* < 0.01). Considering the genotype, patients with CGL2 (*BCL2* mutation) presented a higher prevalence of abnormal GLS than CGL1 (*AGPAT2* mutation): 83.3% (5/6) versus 50% (2/4), respectively.

Segmental Longitudinal Strain of CGL Patients and Control Group

Compared to the control group, CGL patients presented impairment in GLS and in LV segmental longitudinal

Table 1 Conventional Echocardiographic of 22 Patients with Congenital Generalized Lipodystrophy (CGL) and 22 Control Subjects According to the Age

ECHO	<18 Years (N=30)			≥18 Years (N=14)		
	CGL (N=15)	Controls (N=15)	P	CGL (N=7)	Controls (N=7)	P
LAVI, mL/m ²	26.0±7.7	18.2±4.8	<0.01*	27.4±8.4	18.8±4.4	0.04*
LVMI, g/m ² ^{ou2,7}	43.4±13.9	27.3±7.7	<0.01*	96.0±23.3	54.3±10.3	<0.01*
EF, %	70.9±4.5	68.6±4.7	0.33	66.1±5.1	69±4.3	0.34
LVDD, mm/m ²	39.0±11.8	41.1±19.7	0.52	29.3±1.5	26.1±1.5	0.64
LVDS, mm/m ²	23.2±7.2	25.8±12.2	0.26	17.9±1.7	15.6±2.0	0.41
E, ms	1.1±0.2	1.1±0.1	0.87	0.8±0.1	1.0±0.1	0.02*
A, ms	0.5±0.1	0.5±0.1	0.16	0.5±0.1	0.5±0.1	0.84
E/A	1.9±0.5	2.2±0.7	0.12	1.3±0.4	1.8±0.4	0.07
Es, ms	12.3±2.7	14.6±2.7	0.23	9±1.9	14.1±2.9	<0.01*
EI, ms	17.0±2.7	18.6±2.7	0.09	13.7±4.3	18±1.0	0.02*
E/E'	7.4±1.9	6.5±1.0	0.16	7.7±2.3	6.1±0.9	0.17

Notes: Data were described as mean and standard deviation. *p<0.05 Mann-Whitney test.

Abbreviations: n, number of participants; ECHO, conventional echocardiogram parameters; LAVI, left atrial volume index; LVMI, left ventricular mass index; EF, left ventricular ejection fraction; LVDD, left ventricular end-diastolic diameter; LVDS, left ventricular end-systolic diameter; E, PW Doppler of early mitral filling; A, PW Doppler of later mitral filling; E/A, ratio of E to A waves; Es, Tissue Doppler of septal mitral annulus velocity; EI, Tissue Doppler of lateral mitral annulus velocity; E', mean Es-EI; E/E', E/E' ratio.

Table 2 Prevalence of Abnormal Global Longitudinal Strain (GLS) Among 22 Patients with Congenital Generalized Lipodystrophy (CGL) Categorized by Age, According to Reference Ranges³⁵

Age Group (Years-Old)	CGL/Total Patients with Abnormal GLS (%)
0-1	0/1 (0)
2-9	6/8 (80)
10-13	1/3 (33.3)
14-21	4/5 (80)
>21	4/5 (80)

strain (4C, 3C, and 2C chambers). This difference was not detected in apical segments (Table 3).

Global Longitudinal Strain Compared to Conventional ECHO Parameters and Clinical, Metabolic and Genetic Characteristics of CGL Patients

Among 15 CGL patients with abnormal GLS, 93.3% (14/15) had hypertriglyceridemia, 93.3% (14/15) had low HDL-c, 73.3% (11/15) had diabetes, 53.3% (8/15) had hyperinsulinemia and 46% (7/15) had hypercholesterolemia. Among non-insulinized patients, GLS was impaired in 62.5% (5/8) with insulin resistance. Supplemental Table 1 summarizes the clinical, genetic and metabolic characteristics, conventional ECHO parameters, GLS and the medications used by 22 patients with CGL.

Diabetic CGL patients presented a higher prevalence of abnormal GLS than non-diabetic CGL

patients, 73.3% (11/15) vs 57% (4/7), with a mean GLS of -18.34% and -21.35% in the later (p = 0.009).

Table 3 Segmental Longitudinal and Global Longitudinal Strain Data of 22 Patients with Congenital Generalized Lipodystrophy (CGL) and 22 Control Subjects

Segmental LV	CGL	Control	P
Basal inferior	-17.6±6.2	-21.6±3.0	<0.01*
Basal anterior	-16.5±3.9	-22.2±4.8	<0.01*
Basal septal	-16.5±5.4	-20.7±3.4	<0.01*
Basal lateral	-12.5±7.3	-21.2±4.5	<0.01*
Basal posterior	-7.5±10.8	-19.0±3.7	<0.01*
Basal anteroseptal	-16.0±3.5	-20.6±2.6	<0.01*
Mid lower	-19.4±3.3	-22.5±2.8	<0.01*
Mid anterior	-19.6±4.1	-23.2±3.7	<0.01*
Mid septal	-19.1±3.8	-22.7±3.6	0.02*
Mid lateral	-16.7±2.7	-22.5±4.1	<0.01*
Mid posterior	-16.4±3.3	-20.0±3.5	<0.01*
Mid anteroseptal	-20.5±3.9	-23.1±2.4	0.01*
Apical inferior	-23.5±4.3	-24.1±3.4	0.61
Apical anterior	-23.6±4.4	-23.7±4.4	0.91
Apical septal	-24.4±3.7	-24.1±4.1	0.81
Apical lateral	-23.3±4.4	-22.4±4.5	0.49
Apical posterior	-24.6±5.1	-24.2±3.8	0.92
Apical anteroseptal	-26.0±5.9	-24.3±3.6	0.48
Aplax (A3c)	-19.1±3.2	-21.2±2.3	0.01*
A2c	-19.7±3.3	-22.7±2.3	<0.01*
A4c	-18.7±3.6	-22.2±2.9	<0.01*
GLS	-19.2±2.4	-22.1±1.7	<0.01*

Notes: Data were described as mean and standard deviation. *p<0.05 Mann-Whitney test A.

Abbreviations: Aplax (A3c), apical 3-chamber longitudinal strain; A2c, apical 2-chamber longitudinal strain; A4c, apical 4-chamber longitudinal strain; GLS, global longitudinal strain.

There was a moderate correlation between GLS and insulin levels, A1c, blood glucose and age. An inverse correlation was also noted between leptin levels and GLS in the 22 CGL patients (Table 4).

There was a weak correlation between HOMA-IR and GLS, but only 13 patients were not using exogenous insulin and included in this analysis ($r = 0.39$, $p = 0.253$).

A moderate correlation was found between GLS and EF ($r = -0.49$, $p = 0.02$) but none between age and EF ($r = -0.25$, $p = 0.2$). Any correlation among these echocardiographic parameters was observed in the control group.

Discussion

This is the first study to evaluate the heart function and morphology of a large sample of young CGL individuals using 2D-STE. This technique detected a high proportion of CGL patients with abnormal systolic function which was not detected with conventional ECHO.

Using the later we found an increased prevalence of LVH, increased LAVI, LVDS and LVDD, and abnormal diastolic function, but no systolic dysfunction in our CGL patients. A cohort of 44 patients with congenital and acquired generalized lipodystrophy (29 CGL patients) assessed by conventional ECHO showed that 54.4% (24/44) had hypertrophic cardiomyopathy, and 13.6% (6/44) presented characteristics of dilated cardiomyopathy.³⁶ Other cross-sectional study of 22 asymptomatic Brazilian patients with CGL observed the high prevalence of cardiovascular abnormalities also using conventional ECHO-concentric LVH, excentric LVH and abnormal LV geometry, and diastolic dysfunction.³

Some of our patients presented valvar regurgitation with normal cusps associated with enlarged cardiac chambers suggesting that these abnormalities may be secondary to dilatation of the chambers. Cardiac dilatation but with

normal valve morphology was previously described in an autopsy study of CGL patients.³⁷

Using 2D-STE we detected precocious left ventricular systolic dysfunction in a high proportion of CGL patients with normal systolic function when evaluated by conventional ECHO. The higher sensitivity of 2D-STE allows the detection of early abnormalities, due to the objective and quantitative assessment of global and regional myocardial function in all spatial directions. This imaging analysis through the frame-by-frame tracking of natural acoustic markers (speckles) has been shown clinical utility in several pathological conditions.⁷⁻¹¹

Pathophysiological mechanisms of cardiomyopathy in lipodystrophies are not defined yet.^{3,5,36,37} Metabolic disorders, such as severe insulin resistance, high levels of triglycerides, diabetes mellitus and hypoleptinemia would be possible explanations. Our results support this hypothesis, based on the positive correlation of GLS with A1c, blood glucose and insulin, and the negative correlation with leptin levels.

Insulin resistance has been described as a cause of increased LV mass and heart growth.¹³ Insulin acts on insulin-like growth factor (IGF-1) receptors stimulating the stretching of myocardial fibers, causing changes in mass, diameters and, consequently, ventricular contraction.^{38,39} CGL patients usually present severe and early insulin resistance, as we found in our patients. The weak correlation between HOMA-IR and GLS may be explained due to the small number of non-insulinized patients.

In addition to the effect of insulin on cardiac fibers, high levels of serum triglycerides can lead to its accumulation in the heart, a condition referred to as "cardiac steatosis".⁴⁰⁻⁴² Hypertriglyceridemia was observed in 86.4% of our patients and in 93.3% of patients with altered GLS. This condition may lead to increased cardiac diameters, mass and volumes and LV dysfunction.^{42,43} Using magnetic resonance imaging Nelson et al showed a three-fold accumulation of triglycerides in the myocardial cells of CGL patients compared to a control group, thus suggesting that cardiac impairment may also be caused by the deposition of triglycerides.²

We also found a direct correlation between lower leptin levels and worse GLS in CGL patients. Leptin appears to influence the metabolism of triglycerides in myocytes. An experimental study demonstrated that leptin, acting at the central level, regulates TG cardiac deposition in adult rats with normal leptin sensitivity, increasing lipolysis and reducing lipogenesis.⁴⁴ Thus, hypoleptinemia could lead

Table 4 Correlation Between Clinical and Metabolic Variables and Global Longitudinal Strain (GLS) in 22 Patients with Congenital Generalized Lipodystrophy

Metabolic Variables	Rho	P
Insulin (mU/mL)	0.69*	0.024*
A1c (%)	0.57*	0.005*
Leptin (ng/mL)	-0.51*	0.005*
Blood glucose (mg/dl)	0.50*	0.018*
Age (years)	0.45	0.03*
Triglycerides (mg/dl)	0.36	0.098
Total cholesterol (mg/dl)	0.35	0.107
HDL-c (mg/dl)	0.31	0.147

Note: * $p < 0.05$ Spearman correlation test.

to TG accumulation in myocardial cells and may partially explain the changes in cardiac morphology and ventricular function.

In addition to other metabolic disturbances that affect CGL patients, diabetes mellitus is one of the major risk factors for cardiovascular disorders, increasing the risk of coronary artery disease, cardiac autonomic neuropathy, diabetic cardiomyopathy and heart failure, accounting for 2/3 of deaths in diabetic patients.⁴⁵ Hyperglycemia accentuates oxidative stress and leads to the interstitial collagen deposition, fibrosis and apoptosis, which may result in ventricular systolic and diastolic dysfunction.^{46,47} Asymptomatic patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes presented altered longitudinal strain, which might be an early finding of LV remodeling and subclinical cardiovascular disease.^{48,49} Diabetes mellitus was presented in 68.2% (15/22) of our CGL patients, where 73.3% of them presented altered GLS, versus 57% in the group of CGL patients without diabetes.

Diabetes and dyslipidemia are risk factors for atherosclerosis, which also triggers LV systolic and diastolic dysfunction. Postmortem findings in CGL patients including atheromatous plaques with stenosis grade of 20% in left and right coronary arteries were previously described.⁵⁰ Autopsy studies also revealed mild thickening of small intramural coronary arteries in affected patients.⁵¹ A 17-year-old CGL girl with acute myocardial infarction and angiographically normal coronary arteries was reported.¹² Although this study did not directly assess coronary circulation, our patients have several risk factors for early coronary atherosclerosis. Thus, we may speculate that subclinical coronary disease may be involved in these abnormalities detected by 2D-STE.

In our study we found impairment of the longitudinal strain in basal and mid-cavity segments of LV, but not in apical segments in CGL patients compared to the control group. A plausible hypothesis for these findings is the higher amount of longitudinal myocardial fibers in the apical segments, which favors cardiac contraction and the delay of the involvement of this region.⁵² Our findings were similar to described by Phellan et al,⁵³ who showed early impairment of the longitudinal strain of the mid-cavity and basal segments in relation to the apical segments in patients with cardiac amyloidosis, a deposit disease.⁵⁴

We observed a higher prevalence of subclinical systolic dysfunction in CGL2 patients (83.3%) compared to CGL1 (50.0%) using 2D-STE. These findings are in accordance with previous studies that showed a high prevalence of cardiac impairment in CGL2.^{36,55,56} This subtype has more

pronounced metabolic abnormalities than CGL1 due to a more intense loss of functional adipocytes.¹⁹

This is the first study to detect cardiac alterations using 2D-STE in patients with this rare disease. However, the relatively small number of patients and the wide range of age attenuate the strength of our findings. Nevertheless, our series is one of the largest of CGL in Brazil. This is also a cross-sectional study, which carried out at one time point and gives no indication of the time sequence of between exposure and outcome.

Conclusion

The 2D-STE revealed precocious left ventricular systolic dysfunction, even with a normal systolic function when evaluated by conventional ECHO in a young population with CGL. Early exposure to hypoleptinemia and/or insulin resistance even before hyperglycemia must be involved in the myocardial damage in these patients.

Early detection of cardiac abnormalities in young CGL patients using 2D-STE may support a more effective treatment to prevent the high morbidity and mortality usually found in this disorder.

Abbreviations

2C, apical 2-chamber longitudinal strain; 2D-STE, Two-dimensional speckle-tracking echocardiography; 3C, apical 3-chamber longitudinal strain; 4C, apical 4-chamber longitudinal strain; A1c, glycohemoglobin A1c; A, Pulsed-wave Doppler of later mitral filling; AGPAT2, 1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 2; BRAZLIPO, Brazilian Group for the Study of Inherited and Acquired Lipodystrophies; BSA, body surface area; BSCL2, Bernardinelli-Seip congenital lipodystrophy type 2 protein; CGL1, congenital generalized lipodystrophy type 1; CGL2, congenital generalized lipodystrophy type 2; CGL, Congenital generalized lipodystrophy; DTI, pulsed-wave Doppler tissue imaging; E/A, ratio of E to A waves; E, Pulsed-wave Doppler of early mitral filling; E', mean of Tissue Doppler of lateral mitral annulus velocity and Tissue Doppler of septal mitral annulus velocity; ECHO, standard conventional echocardiography; EF, ejection fraction; EI, Tissue Doppler of lateral mitral annulus velocity; Es, Tissue Doppler of septal mitral annulus velocity; GLS, global longitudinal strain; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance; IGF-1, insulin-like growth factor; LAVI, left atrial volume index; LV, left ventricle; LVDD, left ventricular diastolic diameter; LVDS, left ventricular systolic diameter; LVEF, Left

ventricle ejection fraction; LVH, left ventricular hypertrophy; LVMI, LV mass index; PW, Pulsed-wave Doppler; SPSS, Statistical Package for the Social Sciences; STROBE, Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology.

Ethics Approval and Consent to Participate

This study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the University Hospital Walter Cantídio Ethics Committee, Fortaleza, Ceara, Brazil (n° 1.916.387). All the patients and their families gave formal consent to participate in the study by signing the free informed consent form prior to their inclusion.

Data Sharing Statement

The datasets used and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Author Contributions

All authors contributed to data analysis, drafting and revising the article, gave final approval of the version to be published, and agree to be accountable for all aspects of the work.

Disclosure

Prof. Dr. Renan Magalhães Montenegro Junior report grants from Aegerion Pharmaceuticals during the conduct of the study. The authors report no other conflicts of interest in this work.

References

- Garg A. Acquired And Inherited Lipodystrophies. *N Engl J Med*. 2004;350:1220–1234.
- Nelson MD, Victor RG, Szczepaniak EW, Simha V, Garg A, Szczepaniak LS. Cardiac steatosis and left ventricular hypertrophy in patients with generalized lipodystrophy as determined by magnetic resonance spectroscopy and imaging. *Am J Cardiol*. 2013;112(7):1019–1024. doi:10.1016/j.amjcard.2013.05.036
- Rego AGD. Anormalidades cardiovasculares e metabólicas em pacientes com a síndrome de Berardinelli-Seip. *Arq Bras Cardiol*. 2009.
- Brown RJ, Araujo-Vilar D, Cheung PT, et al. The diagnosis and management of lipodystrophy syndromes: a multi-society practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(12):4500–4511. doi:10.1210/jc.2016-2466
- Hussain I, Patni N, Garg A. Lipodystrophies, dyslipidaemias and atherosclerotic cardiovascular disease. *Pathology*. 2018;51(2):202–12.
- Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, et al. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(4):789–793. doi:10.1016/j.jacc.2005.10.040
- Sitja S, Tomasoni L, Turiel M. Speckle tracking echocardiography: a new approach to myocardial function. *World J Cardiol*. 2010;2(1):1. doi:10.4330/wjc.v2.i1.1
- Leitman M, Lysyansky P, Sidenko S, et al. Two-dimensional strain—a novel software for real-time quantitative echocardiographic assessment of myocardial function. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004;17(10):1021–1029. doi:10.1016/j.echo.2004.06.019
- Reisner SA, Lysyansky P, Agmon Y, Mutlak D, Lessick J, Friedman Z. Global longitudinal strain: a novel index of left ventricular systolic function. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004;17(6):630–633. doi:10.1016/j.echo.2004.02.011
- Shah AM, Solomon SD. Myocardial deformation imaging: current status and future directions. *Circulation*. 2012;125(2):e244–e248. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.086348
- Mondillo S, Galderisi M, Mele D, et al. Speckle-tracking echocardiography: a new technique for assessing myocardial function. *J Ultrasound Med*. 2011;30(1):71–83. doi:10.7863/jum.2011.30.1.71
- Khalife WI, Mourtada MC, Khalil J. Dilated cardiomyopathy and myocardial infarction secondary to congenital generalized lipodystrophy. *Texas Hear Inst J*. 2008;35(2):196.
- Bhayana S, Siu VM, Joubert GI, Clarson CL, Cao H, Hegele RA. Cardiomyopathy in congenital complete lipodystrophy. *Clin Genet*. 2002;61(4):283–287. doi:10.1034/j.1399-0004.2002.610407.x
- Scatteia A, Pagano C, Pascale C, et al. Asymmetric hypertrophic cardiomyopathy in generalized lipodystrophy. *Int J Cardiol*. 2016;202:724–725. doi:10.1016/j.ijcard.2015.10.032
- Friguls B, Coroleu W, Del Alcazar R, Hilbert P, Van Maldergem L, Pintos-Morell G. Severe cardiac phenotype of Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy in an infant with homozygous E189X BSCL2 mutation. *Eur J Med Genet*. 2009;52(1):14–16. doi:10.1016/j.ejmg.2008.10.006
- Viégas RFM, Diniz RVZ, Viégas TMRF, Lira F, Bezerra E, de Almeida DR. Cardiac involvement in total generalized lipodystrophy (Berardinelli-Seip syndrome). *Arq Bras Cardiol*. 2000;75(3):246–248. doi:10.1590/S0066-782X200000900006
- Rajab A, Straub V, McCann LJ, et al. Fatal cardiac arrhythmia and long-QT syndrome in a new form of congenital generalized lipodystrophy with muscle rippling (CGL4) due to PTRF-CAVIN mutations. *PLoS Genet*. 2010;6(3):e1000874. doi:10.1371/journal.pgen.1000874
- Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Ann Intern Med*. 2007;147(8):573–577. doi:10.7326/0003-4819-147-8-200710160-00010
- Patni N, Garg A. Congenital generalized lipodystrophies — new insights into metabolic dysfunction. *Nat Publ Gr*. 2015. doi:10.1038/nrendo.2015.123
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412–419. doi:10.1007/BF00280883
- Fu M, Kazlauskaitė R, de Paiva Baracho MF, et al. Mutations in Gng3lg and AGPAT2 in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy and Brunzell syndrome: phenotype variability suggests important modifier effects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2916–2922. doi:10.1210/jc.2003-030485
- Tajik AJ, Seward JB, Hagler DJ, Mair DD, Lie JT. Two-dimensional real-time ultrasonic imaging of the heart and great vessels. Technique, image orientation, structure identification, and validation. *Mayo Clin Proc*. 1978;53:271–303.

23. Edwards WD, Tajik AJ, Seward JB. Standardized nomenclature and anatomic basis for regional tomographic analysis of the heart. *Mayo Clin Proc.* 1981;56:479-497.
24. Bansal RC, Tajik AJ, Seward JB, Offord KP. Feasibility of detailed two-dimensional echocardiographic examination in adults. Prospective study of 200 patients. *Mayo Clin Proc.* 1980;55:291-308.
25. Henry WL, DeMaria A, Gramiak R, et al. Report of the American Society of Echocardiography Committee on nomenclature and standards in two-dimensional echocardiography. *Circulation.* 1980;62(2):212-217. doi:10.1161/01.CIR.62.2.212
26. Lopez L, Colan SD, Frommelt PC, et al. Recomendações para os médicos de quantificação durante a realização do ecocardiograma pediátrico: relatório escrito pelo grupo da Sociedade Americana de Ecocardiografia e do Conselho em Cardiopatias Congênitas. *ABC Imagem Cardiovasc.* 2014;27(3):151-183.
27. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr.* 2006;7(2):79-108. doi:10.1016/j.euje.2005.12.014
28. Shuysmans T, Colan SD. Theoretical and empirical derivation of cardiovascular allometric relationships in children. *J Appl Physiol.* 2005;99(2):445-457. doi:10.1152/japplphysiol.01144.2004
29. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur J Echocardiogr.* 2016;17(12):1321-1360.
30. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovascular Imaging.* 2015;16(3):233-271. doi:10.1093/ehjci/jev014
31. Lima MSM. *Estudo Da Dinâmica De Contração Do Ventriculo Esquerdo Pela Técnica De Speckle Tracking Em Doença De Chagas.* 2013.
32. Mor-Avi V, Lang RM, Badano LP, et al. Current and evolving echocardiographic techniques for the quantitative evaluation of cardiac mechanics: ASE/EAE consensus statement on methodology and indications endorsed by the Japanese Society of Echocardiography. *Eur J Echocardiogr.* 2011;12(3):167-205. doi:10.1093/ejehocardi/jev021
33. Artis NJ, Oxenburgh DL, Williams G, Pepper CB, Tan LB. Two-dimensional strain imaging: a new echocardiographic advance with research and clinical applications. *Int J Cardiol.* 2008;123(3):240-248. doi:10.1016/j.ijcard.2007.02.046
34. Dandel M, Lehmkuhl H, Knosalla C, Suramashvili N, Hetzer R. Strain and strain rate imaging by echocardiography-basic concepts and clinical applicability. *Curr Cardiol Rev.* 2009;5(2):133-148. doi:10.2174/157340309788166642
35. Levy PT, Macheffsky A, Sanchez AA, et al. Reference ranges of left ventricular strain measures by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in children: a systematic review and meta-analysis. *J Am Soc Echocardiogr.* 2016;29(3):209-225. doi:10.1016/j.echo.2015.11.016
36. Lupsa BC, Sachdev V, Lungu AO, Rosing DR, Gorden P. Cardiomyopathy in congenital and acquired generalized lipodystrophy: a clinical assessment. *Medicine (Baltimore).* 2010;89(4):245. doi:10.1097/MD.0b013e3181e9442f
37. Bjornstad PG, Foerster A, Ihlen H. Cardiac findings in generalized lipodystrophy. *Acta Paediatrica.* 1996;85:39-43. doi:10.1111/apa.1996.85.issue-s413
38. Klar A, Brand A, Hurvitz H, Gross-Kieselstein E, Branski D. Cardiomyopathy in lipodystrophy and the specificity spillover hypothesis. *Isr J Med Sci.* 1993;29(1):50.
39. Geffner ME, Santulli TV, Kaplan SA. Hypertrophic cardiomyopathy in total lipodystrophy: insulin action in the face of insulin resistance? *J Pediatr.* 1987;110(1):161. doi:10.1016/S0022-3476(87)80317-7
40. Glenn DJ, Wang F, Nishimoto M, et al. A murine model of isolated cardiac steatosis leads to cardiomyopathy. *Hypertension.* 2011;57(2):216-222. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.160655
41. Lee Y, Naseem RH, Duplomb L, et al. Hyperleptinemia prevents lipotoxic cardiomyopathy in acyl CoA synthase transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci.* 2004;101(37):13624-13629. doi:10.1073/pnas.0405499101
42. Szczepaniak LS, Victor RG, Orci L, Unger RH. Forgotten but not gone: the rediscovery of fatty heart, the most common unrecognized disease in America. *Circ Res.* 2007;101(8):759-767. doi:10.1161/CIRCRESAHA.107.160457
43. Pilz S, März W. Free fatty acids as a cardiovascular risk factor. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(4):429-434. doi:10.1515/CCLM.2008.118
44. Mora C, Pintado C, Rubio B, et al. Central leptin regulates heart lipid content by selectively increasing PPAR β/δ expression. *J Endocrinol.* 2018;236(1):43-56. doi:10.1530/JOE-17-0554
45. Pappachan JM, Varughese GI, Sriraman R, Arunagirinathan G. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology, diagnostic evaluation and management. *World J Diabetes.* 2013;4(5):177. doi:10.4239/wjdv4.i5.177
46. Hensel KO, Grimmer F, Roskopf M, Jenke AC, Wirth S, Heusch A. Subclinical alterations of cardiac mechanics present early in the course of pediatric type 1 diabetes mellitus: a prospective blinded speckle tracking stress echocardiography study. *J Diabetes Res.* 2016;2016.
47. Zoroufian A, Razmi T, Taghavi-Shavazi M, Lotfi-Tokaldany M, Jalali A. Evaluation of subclinical left ventricular dysfunction in diabetic patients: longitudinal strain velocities and left ventricular dyssynchrony by two-dimensional speckle tracking echocardiography study. *Echocardiography.* 2014;31(4):456-463. doi:10.1111/echo.12389
48. Ernande L, Bergerot C, Giered N, et al. Longitudinal myocardial strain alteration is associated with left ventricular remodeling in asymptomatic patients with type 2 diabetes mellitus. *J Am Soc Echocardiogr.* 2014;27(5):479-488. doi:10.1016/j.echo.2014.01.001
49. Moaref A, Faraji M, Tahamtan M. Subclinical left ventricular systolic dysfunction in patients with metabolic syndrome: a case-control study using two-dimensional speckle tracking echocardiography. *ARYA Atheroscler.* 2016;12(6):254-258.
50. Chandalia M, Garg A, Vutich F, Nizzi F. Postmortem findings in congenital generalized lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(10):3077-3081. doi:10.1210/jcem.80.10.7559900
51. Sanon VP, Handelsman Y, Pham SV, Chilton R. Cardiac manifestations of congenital generalized lipodystrophy. *Clin Diabetes.* 2016;34(4):181-186. doi:10.2337/cd16-0002
52. Del Castillo JM, Herszkowicz N, Ferreira C. Speckle tracking-a contratilidade miocárdica em sintonia fina. *Rev Bras Ecocardiogr Imagem Cardiovasc.* 2010;23(3):46-54.
53. Phelan D, Collier P, Thavendiranathan P, et al. Relative apical sparing of longitudinal strain using two-dimensional speckle-tracking echocardiography is both sensitive and specific for the diagnosis of cardiac amyloidosis. *Heart.* 2012;98(19):1442-1448. doi:10.1136/heartjnl-2012-302353
54. Desai HV, Aronow WS, Peterson SJ, Frishman WH. Cardiac amyloidosis: approaches to diagnosis and management. *Cardiol Rev.* 2010;18(1):1-11. doi:10.1097/CRD.0b013e3181b8ba8f
55. Van Maldergem L, Magre J, Khallouf TE, et al. Genotype-phenotype relationships in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy. *J Med Genet.* 2002;39(10):722-733. doi:10.1136/jmg.39.10.722
56. Agarwal AK, Simha V, Oral EA, et al. Phenotypic and genetic heterogeneity in congenital generalized lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(10):4840-4847. doi:10.1210/jc.2003-030855

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy

Dovepress

Publish your work in this journal

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy is an international, peer-reviewed open-access journal committed to the rapid publication of the latest laboratory and clinical findings in the fields of diabetes, metabolic syndrome and obesity research. Original research, review, case reports, hypothesis formation, expert opinion

and commentaries are all considered for publication. The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

Submit your manuscript here: <https://www.dovepress.com/diabetes-metabolic-syndrome-and-obesity-targets-and-therapy-journal>

Emerging Roles of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in Delaying the Progression of Type 1 Diabetes Mellitus

This article was published in the following Dove Press journal:
Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy

Jaquelyne Gurgel Penaforte-Saboia ^{1,2}

Carlos Eduardo Barra Couri³

Natasha Vasconcelos

Albuquerque^{1,4}

Vanessa Lauanna Lima Silva⁵

Natália Bitar da Cunha

Olegario ^{1,2}

Virgínia Oliveira

Fernandes ^{1,2,4}

Renan Magalhães

Montenegro Junior ^{1,2,4}

¹Clinical Research Unit, Walter Cantídio University Hospital, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil; ²Department of Clinical Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil; ³Center for Cell-Based Therapy, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, São Paulo, Brazil; ⁴Department of Community Health, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil; ⁵Department of Clinical Medicine, Hospital and Maternity Dra Zilda Arns Neumann, Fortaleza, Brazil

Abstract: Type 1 diabetes mellitus (T1DM) results from the immune cell-mediated destruction of functional pancreatic β -cells. In the presymptomatic period, T1DM is characterized by the presence of two or more autoantibodies against the islet cells in patients without glycemic decompensation. Therapeutic strategies that can modify the autoimmune process could slow the progression of T1DM. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) or CD26, a multifunctional serine protease with a dual function (regulatory protease and binding protein), can modulate inflammation and immune cell-mediated β -cell destruction. CD26 is involved in T-cell co-stimulation, migration, memory development, thymic maturation, and emigration patterns. DPP-4 degrades the peptide hormones GLP-1 and GIP. In addition to regulating glucose metabolism, DPP-4 exerts anti-apoptotic, regenerative, and proliferative effects to promote β -cell mass expansion. GLP-1 receptor signaling may regulate murine lymphocyte proliferation and maintenance of peripheral regulatory T-cells. In patients with T1DM, the serum DPP-4 activity is upregulated. Several studies have suggested that the upregulated DPP-4 activity is correlated with T1DM pathophysiology. DPP-4, which is preferentially expressed on the Th1 surface, can promote the polarization of Th1 immunity, a prerequisite for T1DM development. CD26 inhibition can suppress T-cell proliferation and Th1 cytokine production and stimulate tumor growth factor beta-1 (TGF- β 1) secretion, which plays an important role in the regulation of autoimmunity in T1DM. Studies on humans or animal models of T1DM have suggested that DPP-4 inhibitors can improve β -cell function and attenuate autoimmunity in addition to decreasing insulin dependence. This review summarizes the emerging roles of DPP-4 inhibitors in potentially delaying the progression of T1DM.

Keywords: CD26, type 1 diabetes mellitus, autoimmunity, autoantibodies, therapeutic targets, prevention

Introduction

Type 1 diabetes mellitus (T1DM), a chronic disease, results from the immune-mediated destruction of functional pancreatic β -cell mass.¹ Insulinitis is characterized by an inflammatory response that mainly involves CD8⁺ T-cells, CD68⁺ macrophages, CD4⁺ T-cells, CD20⁺ B lymphocytes, and CD138 plasma cells. The imbalance among the effector regulatory T-cells contributes to the development of insulinitis.² Consequently, insulinitis leads to the enhanced production of cytokines, such as interferon-gamma (IFN- γ) and tumor necrosis factor-alpha (TNF α) along with the activation of innate immunity and the secretion of other inflammatory factors, such as interleukin 1 beta (IL-1 β), induce β -cell death.³

Correspondence: Renan Magalhães Montenegro Junior
Federal University of Ceará, Rua Coronel Nunes de Melo s/n, Fortaleza, 60430-270, Ceará, Brazil
Tel +55 8533668600
Fax +55 85 3366-8619
Email renanmjr@gmail.com

submit your manuscript | www.dovepress.com

Dovepress    
<https://doi.org/10.2147/DMSO.S294742>

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy 2021:14 565–573

565

 © 2021 Gurgel Penaforte-Saboia et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <https://www.dovepress.com/terms.php> and incorporate the Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported, v3.0) License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>). By accessing this work you hereby accept the Terms. Non-commercial uses of the work are permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. For permission for commercial use of this work, please see paragraphs 4.2 and 5 of our Terms (<https://www.dovepress.com/terms.php>).

Insulinitis was first reported in the 1960s.⁴ The correlation of T-cell abnormalities and some human leukocyte antigen alleles with juvenile-onset diabetes was identified in the 1970s. This led to the hypothesis that autoimmunity is the pathophysiological mechanism underlying the development of diabetes in a subgroup of patients.⁵

The identification of islet cell antibody (ICA) provided the first evidence for this hypothesis.^{6,7} Subsequently, the concept of a “prediabetic” stage was proposed according to which the production of antibodies precedes the onset of diabetes by several years.^{8,9} Various islet autoantibodies, such as insulin autoantibodies (IAA), glutamic acid decarboxylase antibodies (GADA) and islet autoantigens, such as tyrosine phosphatase-like insulinoma antigen (IA-2), and zinc transporter 8 (ZnT8) increase the risk of developing clinical type 1 diabetes. Previous studies have reported that most children with multiple islet autoantibodies develop clinical diabetes.^{10,11}

The measurement of islet autoantibodies has enabled the prediction of T1DM risk. Clinical trials on the individuals in the prediabetic stage have enabled the identification and quantification of the risk of developing symptoms and the characterization of T1DM into well-defined stages.¹² Stage 1, a presymptomatic stage, is defined as autoimmunity against β -cells (two or more islet autoantibodies) with normoglycemia. The 5-year and 10-year risks of developing the symptomatic disease are approximately 44% and 70% in these patients, respectively.¹³ Stage 2 is a presymptomatic stage that is characterized by autoimmunity against β -cells and dysglycemia. The 5-year risk of developing the symptomatic disease at this stage is approximately 75%, while the lifetime risk approaches 100%.¹⁴ Stage 3 is the onset of symptomatic disease.¹²

Recent findings on the cellular and molecular basis of immune-mediated diabetes progression and the characterization of T1DM stages have increased the number of trials that aim to intervene in the early stages of T1DM to prevent or delay progression to the symptomatic stage.^{15,16} Additionally, various therapeutic interventions that can potentially modulate the autoimmune process in T1DM have been examined. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4 or CD26) inhibitors (iDPP-4s), which are widely used to treat patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), are a potential therapeutic for T1DM. In addition to down-regulating the degradation of incretin hormones, such as glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP),¹⁷ DPP-4 is reported to modulate inflammation and immune-mediated β -cell

destruction.^{18,19} CD26 plays a central role in T-cell costimulation, migration, memory development, thymic maturation, and emigration patterns.²⁰

T1DM, which is a progressive disease with a high incidence, is associated with high morbidity and mortality. However, the current therapeutic modality for T1DM, which lacks a curative therapy, is the administration of exogenous insulin. Various studies have demonstrated that the strategies to optimally manage diabetes, such as glycemic adjustment, adequate nutrition, and adherence to physical activity have a limited patient compliance.^{21,22}

The use of drugs with the potential to prolong the presymptomatic period can reduce the long-term impact of T1DM. iDPP-4s are reported to exert immunomodulatory effects and can potentially delay the progression of T1DM. Thus, there is a need to evaluate the ability of iDPP-4s to prevent, delay, or cure T1DM.

Immunomodulatory Effect of DPP-4 (CD26) in T1DM

Type II transmembrane glycoprotein CD26 or DPP-4 is a multifunctional serine protease that functions as a regulatory protease and a binding protein. DPP-4 is involved in the metabolism of peptide hormones and T-cell immune responses and T-cell activation and proliferation. Both soluble (DPP-4) and membrane-bound forms (CD26) are active in the dimer form.^{23,24}

DPP-4 is a member of the prolyl oligopeptidase family, which comprises atypical serine proteinases that can hydrolyze the prolyl bond.^{25,26} The levels of DPP-4 are high in the seminal fluid, moderate in the plasma, and low in the cerebrospinal fluid.²⁷ DPP-4 cleaves X-proline or X-alanine dipeptides from the N-terminus of polypeptides and consequently inactivates several chemokines, growth factors, neuropeptides, and peptide hormones.^{23,28}

The peptide hormones GLP-1 and GIP contain an alanine at position 2, which is a substrate for DPP-4-mediated degradation.²⁹ GLP-1 and GIP, which are secreted from the intestine after ingestion of meals, are involved in glucose metabolism. Incretin hormones promote glucose-dependent insulin secretion from the pancreatic β -cells and suppress excessive glucagon secretion from the α -cells. Additionally, animal and in vitro studies have revealed that GLP-1 and GIP exert anti-apoptotic, regenerative, and proliferative effects to promote β -cell mass expansion.³⁰ Hadjiyanni et al demonstrated that GLP-1 receptor (GLP-1R) signaling may regulate murine

lymphocyte proliferation and maintain the pool of peripheral regulatory T-cells.³¹ The inhibition of DPP-4 activity can downregulate the degradation of GLP-1 and GIP and consequently enhance their therapeutic efficacy.³²

The enhanced activity of DPP-4 did not result in systemic immune activation. However, enhanced DPP-4 activity was associated with hepatic T-cell activation under various clinical conditions, such as patients with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus co-infections exhibiting hepatotoxicity after highly active antiretroviral therapy.³³ Previous studies have reported that the serum DPP-4 levels were upregulated in some autoimmune diseases, such as Graves' disease, Hashimoto thyroiditis, multiple sclerosis, and primary biliary cholangitis. In contrast, the serum DPP-4 levels were downregulated in systemic lupus erythematosus and antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis.^{34,35}

One study evaluated the serum DPP-4 activity in 48 patients with T1DM (mean T1DM duration: 13.4 ± 9.76 years) and 50 healthy individuals. The fasting serum DPP-4 activity was upregulated in patients with T1DM independent of the presence of the ICA and GADA.³⁶ Another study involving 76 young Japanese patients with T1DM and 22 healthy volunteers demonstrated that the serum DPP-4 activity was significantly upregulated in patients with T1DM.³⁷ Iwabuchi et al examining 43 Japanese children with T1DM and 26 age- and sex-matched healthy volunteers also reported that DPP-4 activity was significantly upregulated in the T1DM group without correlation with glycated hemoglobin (HbA1c), blood glucose, GADA status, or diabetes duration, but with an inverse correlation with insulin sensitivity.³⁸

Duvnjak et al compared the serum DPP-4 activity within 19 latent autoimmune diabetes of the adult (LADA), 21 T1DM, 26 T2DM and 13 healthy controls patients, demonstrating that individuals with LADA express higher DPP-4 activity than the ones with T1DM and T2DM (mean duration of diabetes 20.3 ± 11.3 years for 3 groups).³⁹ Once the strong correlation among serum DPP-4 activity, anthropometric parameters and insulin resistance (IR) has been showed,^{36,38} the higher DPP-4 activity in LADA patients could be justified by their significantly higher waist circumference than T1DM patients and also by a probably higher IR (represented by a higher insulin dose) than T2DM patients.³⁹

The mechanisms underlying the upregulated DPP-4 activity in T1DM and LADA have not been elucidated. Some studies have suggested that hyperglycemia can

upregulate DPP-4 activity. Sustained hyperglycemia is reported to enhance the levels of advanced glycation end products (AGEs), which consequently affect the release of DPP-4 from the cell surface and upregulate DPP-4 in T1DM.⁴⁰ In patients with T2DM, the serum levels of DPP-4 are correlated with those of AGEs.⁴¹ It was shown earlier that iDPP-4s suppress atherosclerotic vascular injury in diabetic animals by inhibiting the deleterious effects of AGEs.^{40,42-45} The use of teneligliptin in T1DM patients as well as in streptozotocin-induced T1DM mice may inhibit foam cell formation and oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) uptake of macrophages via suppression of CD36 and acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase-1 (ACAT-1) gene expression. Thus, the harmful effects of AGEs are attenuated. In mice, teneligliptin reduced all the damaging effects of AGEs in THP-1 cells and macrophages.⁴⁶ The exposure of human glomerular endothelial cells to enhanced glucose level resulted in the upregulation of messenger RNA expression and activity of DPP-4.⁴⁷ Similar findings have been reported in the human hepatocyte line HepG2 cells.⁴⁸

However, some studies have suggested that the upregulated activity of DPP-4 is associated with T1DM pathophysiology as it is involved in T-cell immune responses. DPP-4 can modulate in vitro T-cell proliferation and enhance T-cell transendothelial migration.^{23,24} The members of the chemokine family are the common DPP-4 substrates for immune function.

CD4⁺ T-cells can be subclassified into T-helper 1 (Th1) and T-helper 2 (Th2) cells. The Th1 cells predominantly produce IL-2, IFN- γ , and TNF- β . The Th2 cells secrete cytokines, IL-4, IL-5, and IL-10.⁴⁹ A consequence of DPP-4-mediated cleavage of chemokines inhibits the stimulation of Th2 immune responses. Additionally, DPP-4, which is predominantly expressed in the Th1 cells, can shift the chemokine activity toward the stimulation and attraction of Th1 cells. DPP-4 cleaves regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted, eotaxin, monocyte-derived chemokine, stromal-derived factor (SDF)-1 α , and SDF-1 β . The cleavage products of these chemokines trigger Th1-specific chemokine receptors but not Th2-specific chemokine receptors.^{50,51} In contrast, the inhibition of DPP-4 increases Th2 cytokine secretion.⁵²

Studies on the humans and diabetic animal models have reported that the functional polarization of Th lymphocyte subsets is a potential risk factor for T1DM. The impairment of Th2 function and Th1 immunity are the

prerequisite for disease development.^{53,54} Studies on children with a recent diagnosis of T1DM and high-risk (ICA ≥ 20) first-degree relatives of patients with T1DM have revealed that the cellular responses against the islet cell antigen glutamic acid decarboxylase 65 involve the Th1 phenotype.^{55,56} Similar results have been reported in the diabetic animal models. Polarized Th function is associated with disease development in non-obese diabetic (NOD) mice and BioBreeding rats.^{53,57}

The ability of DPP-4 to modulate the activities of neuropeptides, such as substance P, neuropeptide Y, and endomorphin-2 may contribute to the regulation of interactions between the nervous and immune systems.²⁷

Membrane-bound CD26 is expressed in various cells and tissues, such as the T-cells, B-cells, and natural killer cells, melanocytes, epithelia of the renal tubule, endothelial cells, and colonic mucosa. CD26 is critical for the T-cell immune responses as it can modulate T-cell proliferation in vitro and deliver a costimulatory signal for T-cell activation. The resting lymphocytes exhibit minimal levels of CD26. In contrast, the activation of lymphocytes upregulates the expression of CD26. The stimulated T-cells exhibit enhanced expression levels of CD26, which were equivalent to those in the epithelial cells.^{23,24} Moreover, the depletion of CD26, a thymic maturation marker, affects the lymphocyte composition, memory T-cell generation, and thymic emigration patterns.⁵⁸

CD26, which serves as a receptor for adenosine deaminase (ADA) on the T-cell surface,⁵⁹ can modulate the concentration of local extracellular and intracellular ADA levels.^{24,60} The expression levels of ADA inversely regulate cellular proliferation and apoptosis. The binding of ADA to CD26/DPP-4 on the surface of T-cells promotes IL-2 production and secretion.^{61,62}

In the antigen-presenting cells, caveolin-1 ligates the CD26 dimers on the T-cell surface, which results in the recruitment of lipid rafts to the plasma membrane and CARMA1 to the cytosolic portion of CD26. This leads to the activation of nuclear factor- κ B, T-cell proliferation, and IL-2 production.⁶³ Furthermore, CD26, regulates adhesion, cytoplasmic dissemination, and migration of T-cells in the intra-plasma membrane by promoting the interaction of chemokine receptors with thrombospondin-1 and CD91.⁶⁴

The inhibition of CD26 is reported to suppress T-cell proliferation and Th1 cytokine production and stimulate tumor growth factor beta-1 (TGF- β 1) secretion, which plays an important role in the regulation of autoimmunity in T1DM.⁶⁵ TGF- β 1 mediates the function of regulatory

T-cells and regulates the expansion of Foxp3-expressing CD4+ CD25+ regulatory T-cells.⁶⁶ Regulatory T-cells can suppress effector T-cell migration, accumulation, and proliferation in draining lymph nodes and inflamed tissues. Additionally, regulatory T-cells are involved in the maintenance of self-tolerance and the prevention of autoimmune diseases.⁶⁷ The CD26-deficient rats are reported to exhibit an enhanced number of regulatory T-cells and a decreased number of memory T-cells.⁵⁸

The upregulation of CD4+ CD25+ Foxp3 regulatory T-cells in the pancreatic lymph nodes ameliorated autoimmunity in NOD mice. Cyclophosphamide-induced exacerbation of diabetes in NOD mice was associated with a decreased pool of CD4+ CD25+ Foxp3 regulatory T-cells.^{68,69}

There are contradictory findings on CD26 expression in T1DM. A trial involving 48 patients with T1DM and 50 healthy individuals revealed an upregulated serum DPP-4 activity and a significantly downregulated expression of lymphocyte membrane-bound CD26 without any correlation between serum DPP-4 enzymatic activity and CD26 expression in patients with T1DM.³⁷ This altered activity of serum DPP-4 and expression of CD26 can be attributed to the secondary change in the entero-insular axis and might be a novel part of the T-lymphocyte regulatory dysfunction observed in T1DM. Caveolin-1 can be a potential downstream target in CD26 signaling and T-cell co-stimulation.^{63,70}

Matteucci et al analyzed the proportions of naïve (N), central memory (CM), effector memory, and terminally differentiated effector memory (TEMRA) subsets among CD4+ and CD8+ T-cells expressing CD26 in the peripheral blood of 55 patients with T1DM and 20 healthy volunteers. The authors demonstrated that the T1DM group was associated with decreased proportions and absolute numbers of CM and N cells and increased proportions and absolute numbers of TEMRA cells. The ability of accumulated TEMRA cells in patients with T1DM to elicit life-long upon stimulation by protracted antigen exposure (such as viruses or residual self-antigens) or a homeostatic defect in the regulation/contraction of immune responses is not clear.²⁰

Experimental and Clinical Studies with iDPP-4

Several clinical trials have evaluated the safety and efficacy of iDPP-4 in T1DM.^{71,72} In vitro, human, and animal

studies have suggested that iDPP-4s could enhance β -cell function and attenuate autoimmunity in T1DM. In 2010, we investigated the ability of iDPP-4 to alleviate new-onset diabetes in NOD mice, modulate the inflammatory response, and stimulate β -cell regeneration. After the diagnosis of new-onset diabetes (non-fasting blood glucose level >250 mg/dL on at least two consecutive measurements), the mice were orally treated with iDPP-4 for 2, 4, or 6 weeks along with insulin if the blood glucose level was >200 mg/dL. Compared with that in the insulin treatment group, diabetes was mitigated (blood glucose levels consistently remaining <200 mg/dL) in 57, 74, and 73% of mice after 2, 4, and 6 weeks of treatment with iDPP-4, respectively. However, long-term remission could not be induced. In NOD mice treated with iDPP-4 for 2 weeks, the mean blood glucose level increased in most mice after discontinuing iDPP-4. Treatment with iDPP-4 for 4 and 6 weeks markedly mitigated new-onset diabetes but could not induce long-term remission. The symptoms of diabetes gradually reemerged after stopping treatment. The disease relapse after stopping the treatment is associated with the reduction in the regulatory T-cell pool. The analysis of rats in remission revealed a marked reduction in insulinitis and an enhanced proportion of CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T-cells among the total CD4⁺ T-cells. The plasma TGF- β 1 and GLP-1 levels were significantly upregulated in the rats in remission. Additionally, the insulin content and the number of insulin and bromodeoxyuridine-positive cells (representing replicated B-cells) in the pancreas significantly increased in the rats in remission. These findings suggest that immune regulation plays a critical role in alleviating new-onset diabetes in iDPP-4-treated NOD mice.¹⁸

Another study analyzed the effect of sitagliptin treatment for 30 and 90 days in a streptozotocin-induced T1DM experimental animal model. Diabetic mice treated with iDPP-4 exhibited significantly downregulated blood glucose levels, attenuated glycemic response to oral glucose tolerance test, and significantly upregulated GLP-1 serum levels. After 90 days of treatment, iDPP-4-treated diabetic animals exhibited significantly upregulated serum insulin concentrations. Additionally, some mice exhibited a non-significant increase in the number of small pancreatic islets. Furthermore, iDPP-4-treated mice exhibited a decreased proportion of CD4⁺CD26⁺ T-cells and an increased proportion of CD4⁺CD25^{hi}Foxp3⁺ T-cells in the spleen. iDPP-4 modulated the pancreatic inflammatory profile. Pancreatic lymph nodes from iDPP-4-treated mice

exhibited a decreased proportion of CD11b⁺ cells and decreased levels of inflammatory cytokines in the pancreas, especially IFN- γ .⁷³

A previous study reported that two young women with T1DM achieved clinical remission for 4 years after treatment with sitagliptin and vitamin D3. One patient used the oral drugs for approximately 1 month after T1DM diagnosis, while the second patient used them after 10 months. In addition to clinical remission, the two patients exhibited stable C-peptide (CP) levels during this period with early and significantly downregulated GADA levels. However, both patients had factors associated with better outcomes in immunological intervention studies, such as the absence of ketoacidosis at diagnosis, age of more than 14 years, and positive fasting CP levels at the onset of T1DM.⁷⁴ Similarly, Lima-Martínez et al described a case of a 19-year-old male who started using sitagliptin (100 mg/day) three days after T1DM diagnosis. The patient exhibited ketoacidosis at the time of T1DM diagnosis and entered remission eight weeks after diagnosis. Additionally, the patient was in remission until the time of the publication (15 months of sitagliptin treatment).⁷⁵

In 2009, a study reported two patients who remained insulin-free for 47 and 43 months after treatment with autologous non-myeloablative hematopoietic stem cell transplants and returned to insulin use. After 4 and 2 months of insulin resumption, 100 mg/day sitagliptin was prescribed. The two patients were insulin-free after 2 months and 1 month of using iDPP-4 for another 5 and 6 months, respectively. Additionally, the patients exhibited upregulated levels of CP.⁷⁶

Recently, a trial conducted by Kumar et al randomized 18 newly diagnosed T1DM cases into the following three groups: group 1, treated with insulin; group 2, treated with insulin and exenatide (5 mg subcutaneously administered twice daily for one month and subsequently 10 mg twice daily); group 3, treated with insulin and sitagliptin (100 mg daily). The insulin requirement of all groups decreased after 12 months of treatment. Compared with that in group 1, the decrease in insulin requirement was higher in groups 2 and 3.⁷⁷

Another study enrolled 20 adults with long-term T1DM and treated them with sitagliptin (100 mg/day), or placebo along with insulin for 4 weeks and then the subjects were crossed over. Sitagliptin significantly improved the parameters of overall glucose control, including postprandial and 24-h glucose levels, and significantly decreased prandial insulin requirements.⁷⁸

A meta-analysis assessed the therapeutic effects of iDPP-4 on T1DM and included patients with both newly diagnosed and long-term disease. The use of iDPP-4 was associated with a reduction in the daily dose of insulin (units/day). The medication was well tolerated. Among the six studies included in the analysis, two patients exhibited self-limited nausea, one patient reported a rash, and one patient had abdominal pain. None of the patients in the six studies developed ketoacidosis. Additionally, the incidence of severe hypoglycemia was not affected.⁷⁹

Another meta-analysis published in 2018 including 253 participants (only 120 CP positive patients) from 5 randomized controlled trials (RCTs) revealed that the addition of iDPP-4 to insulin therapy resulted in a greater, but not significant, reduction in HbA1c levels. A small decrease in postprandial glucose and insulin dose were also noted. Regarding the function of β -cell, from 120 patients with positive CP, the increase in fasting CP (FCP) level could not be showed in the group treated with iDPP-4. However, it is important to note that none of the 5 RCTs have assessed immunological indicators.⁸⁰

Zhao et al evaluated the use of sitagliptin (100 mg/day) in patients with a recent diagnosis (three years or less) of LADA and exhibiting FCP level of ≥ 200 pmol/L or a 2-h postprandial CP level of ≥ 400 pmol/L. Thirty patients were randomized into groups treated with insulin with or without sitagliptin 100 mg daily for 12 months. In the sitagliptin group, the 2-h postprandial CP and delta CP levels after 12 months were similar to those at the baseline. However, the levels of 2-h post-prandial CP and delta CP were significantly downregulated in the insulin group. After 12 months of treatment, the GADA titers, insulin dosage, fasting glucose, 2-hour postprandial glucose, and HbA1c levels were not significantly different from that at baseline and after 3, 6, 9, and 12 months of treatment.¹⁹

Another study comparatively analyzed CP levels in patients with LADA who were treated with linagliptin or glimepiride. Linagliptin preserved β -cell function in patients with LADA during the 2-year study period. The FCP levels increased at weeks 28, 52, and 104 when compared with those at baseline in linagliptin-treated patients but decreased in glimepiride-treated patients. Mean HbA1c levels was similar in both groups.⁸¹ These results suggest that iDPP-4 may have attenuated the rate of decline in CP levels in patients with LADA. These findings also indicated that changes in glucose levels may affect β -cell function.⁸² However, glycemic control was similar between groups in both

studies. Therefore, the loss of β -cell secretion in iDPP-4-treated patients was not dependent on the glucose levels and the decreased glucotoxicity was not responsible for β -cell preservation.

Regarding general adverse events, iDPP-4 are generally well tolerated. Controversial data has historically associated the use of iDPP-4 with an increased risk of pancreatitis and pancreatic cancer.⁸³⁻⁸⁷ However, an up to date meta-analysis including 165 trials performed on T2DM, with duration ≥ 24 weeks, revealed no association between the use of iDPP-4 and an increased risk of pancreatitis or pancreatic cancer without significant differences across individual molecules in the class.⁸⁸ Another meta-analysis that included only T1DM showed no serious side effects clearly related to the iDPP-4 including ketoacidosis and pancreatitis.⁸⁰ Furthermore, several meta-analyses have shown no differences between iDPP-4 and placebo concerning major cardiovascular events.⁸⁹⁻⁹²

Conclusion

T1DM, as well as LADA, which are progressive diseases with a high incidence, are associated with high morbidity and mortality. The major therapeutic modality for both, which has no curative therapy, is the administration of exogenous insulin. T1DM and LADA can be effectively managed using iDPP-4s. To the best of our knowledge, this is the first study to review the pathophysiological mechanism underlying the rational use of iDPP-4s, which have the potential to slow the progression of T1DM and LADA. However, this study was limited to a literature review. Among the reviewed studies, some studies had small sample sizes with inadequate reporting of raw participant data and/or standard deviations. Additionally, this review included studies that used different iDPP-4s, dosages, and treatment durations (ranging from weeks to months). However, this study reviewed interesting data that should be considered to design therapeutic strategies for both T1DM and LADA to prevent or delay the onset of symptoms.

Author Contributions

All authors made substantial contributions to conception and design; acquisition, analysis and interpretation of data; took part in drafting the article and revising it critically for important intellectual content; agreed to submit to the current journal; gave final approval of the version to be published; and agree to be accountable for all aspects of the work.

Funding

There is no funding to report.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest for this work.

References

- Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2014;383(9911):69–82. doi:10.1016/S0140-6736(13)60591-7
- Willcox A, Richardson SJ, Bone AJ, Foulis AK, Morgan NG. Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2009;155(2):173–181. doi:10.1111/j.1365-2249.2008.03860.x
- Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature*. 2010;464(7293):1293–1300. doi:10.1038/nature08933
- Gepts W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*. 1965;14(10):619–633. doi:10.2337/diab.14.10.619
- Strosberg JM, Harris ED Jr. Letter: HL-A genotypes and diabetes. *Lancet*. 1974;2(7890):1212. doi:10.1016/S0140-6736(74)90857-5
- Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*. 1974;2(7892):1279–1283. doi:10.1016/S0140-6736(74)90140-8
- MacCuish AC, Irvine WJ, Barnes EW, Duncan LJ. Antibodies to pancreatic islet cells in insulin-dependent diabetics with coexistent autoimmune disease. *Lancet*. 1974;2(7896):1529–1531. doi:10.1016/S0140-6736(74)90281-5
- Irvine WJ, Gray RS, McCallum CJ. Pancreatic islet-cell antibody as a marker for asymptomatic and latent diabetes and prediabetes. *Lancet*. 1976;2(7995):1097–1102. doi:10.1016/S0140-6736(76)91084-9
- Lendrum R, Nelson PG, Pyke DA, Walker G, Gamble DR. Islet-cell, thyroid, and gastric autoantibodies in diabetic identical twins. *Br Med J*. 1976;1(6009):553–555. doi:10.1136/bmj.1.6009.553
- Watkins RA, Evans-Molina C, Blum JS, DiMeglio LA. Established and emerging biomarkers for the prediction of type 1 diabetes: a systematic review. *Transl Res*. 2014;164(2):110–121. doi:10.1016/j.trsl.2014.02.004
- Bonifacio E, Achenbach P. Birth and coming of age of islet autoantibodies. *Clin Exp Immunol*. 2019;198(3):294–305. doi:10.1111/cei.13360
- Insel RA, Dunne JL, Atkinson MA, et al. Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the endocrine society, and the American diabetes association. *Diabetes Care*. 2015;38(10):1964–1974. doi:10.2337/dc15-1419
- Ziegler AG, Rewers M, Simell O, et al. Seroconversion to multiple islet autoantibodies and risk of progression to diabetes in children. *JAMA*. 2013;309(23):2473–2479. doi:10.1001/jama.2013.6285
- Krischer JP. Type 1 diabetes trialnet study group. The use of intermediate endpoints in the design of type 1 diabetes prevention trials. *Diabetologia*. 2013;56(9):1919–1924. doi:10.1007/s00125-013-2960-7
- Association AD. Effects of oral insulin in relatives of patients with type 1 diabetes: the diabetes prevention trial–type 1. *Diabetes Care*. 2005;28(5):1068–1076. doi:10.2337/diacare.28.5.1068
- Vandemeulebroucke E, Gorus FK, Decochez K, et al. Insulin treatment in IA-2A-positive relatives of type 1 diabetic patients. *Diabetes Metab*. 2009;35(4):319–327. doi:10.1016/j.diabet.2009.02.005
- Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev*. 2007;87(4):1409–1439. doi:10.1152/physrev.00034.2006
- Tian L, Gao J, Hao J, et al. Reversal of new-onset diabetes through modulating inflammation and stimulating β -cell replication in non-obese diabetic mice by a dipeptidyl peptidase IV inhibitor. *Endocrinology*. 2010;151(7):3049–3060. doi:10.1210/en.2010-0068
- Zhao Y, Yang L, Xiang Y, et al. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin maintains β -cell function in patients with recent-onset latent autoimmune diabetes in adults: one year prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(5):E876–80. doi:10.1210/jc.2013-3633
- Matteucci E, Ghimenti M, Di Beo S, Giampietro O. Altered proportions of naive, central memory and terminally differentiated central memory subsets among CD4+ and CD8+ T cells expressing CD26 in patients with type 1 diabetes. *J Clin Immunol*. 2011;31(6):977–984. doi:10.1007/s10875-011-9573-z
- Klein BE, Klein R. Further insight on the limits of success of glycemic control in type1 diabetes. *Diabetes*. 2015;64(2):341–343. doi:10.2337/db14-1447
- Thabit H, Tauschmann M, Allen JM, et al. Home use of an artificial beta cell in type1 diabetes. *N Engl J Med*. 2015;373(2129–40):44. doi:10.1056/NEJMoa1509351
- Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW. CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand J Immunol*. 2001;54(3):249–264. doi:10.1046/j.1365-3083.2001.00984.x
- Morimoto C, Schlossman SF. The structure and function of CD26 in the T-cell immune response. *Immunol Res*. 1998;16(1):55–70.
- Abbott CA, Yu D, McCaughan GW, Gorrell MD. Post proline cleaving peptidases having DP. In: Jürgen L, Siegfried A, editors. *Cellular Peptidases in Immune Functions and Diseases 2*. Boston: Springer; 2002:103–109.
- Barrett AJ, Woessner JF, Rawlings ND. *Handbook of Proteolytic Enzymes*. 3rd ed. Camb: Elsevier; 2012.
- De Meester I, Korom S, Van Damme J, Scharpé S. CD26, let it cut or cut it down. *Immunol Today*. 1999;20(8):367–375. doi:10.1016/S0167-5699(99)01486-3
- Matteucci E, Giampietro O. Dipeptidyl peptidase-4 (CD26): knowing the function before inhibiting the enzyme. *Curr Med Chem*. 2009;16(23):2943–2951. doi:10.2174/092986709788803114
- Kieffer TJ, McIntosh CH, Pederson RA. Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Endocrinology*. 1995;136(8):3585–3596. doi:10.1210/endo.136.8.7628397
- Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab*. 2006;3(3):153–165. doi:10.1016/j.cmet.2006.01.004
- Hadjiyanni I, Siminovitch KA, Danska JS, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 receptor signalling selectively regulates murine lymphocyte proliferation and maintenance of peripheral regulatory T cells. *Diabetologia*. 2010;53(4):730–740. doi:10.1007/s00125-009-1643-x
- Baggio LL, Drucker DJ. Therapeutic approaches to preserve islet mass in type 2 diabetes. *Annu Rev Med*. 2006;57(1):265–281. doi:10.1146/annurev.med.57.110104.115624
- Stone SF, Lee S, Keane NM, Price P, French MA. Association of increased hepatitis C virus (HCV)-specific IgG and soluble CD26 dipeptidyl peptidase IV enzyme activity with hepatotoxicity after highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-HCV-coinfected patients. *J Infect Dis*. 2002;186(10):1498–1502. doi:10.1086/344892
- Kobayashi H, Hosono O, Mimori T, et al. Reduction of serum soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV enzyme activity and its correlation with disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2002;29(9):1858–1866.
- Schönermarck U, Csernok E, Trabandt A, Hansen H, Gross WL. Circulating cytokines and soluble CD23, CD26 and CD30 in ANCA-associated vasculitides. *Clin Exp Rheumatol*. 2000;18(4):457–463.
- Varga T, Somogyi A, Barna G, et al. Higher serum DPP-4 enzyme activity and decreased lymphocyte CD26 expression in type 1 diabetes. *Pathol Oncol Res*. 2011;17(4):925–930. doi:10.1007/s12253-011-9404-9

37. Osawa S, Kawamori D, Katakami N, et al. Significant elevation of serum dipeptidyl peptidase-4 activity in young-adult type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016;113:135–142. doi:10.1016/j.diabres.2015.12.022
38. Iwabuchi A, Kamoda T, Saito M, et al. Serum dipeptidyl peptidase 4 activity in children with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2013;26(11–12):1093–1097. doi:10.1515/jpem-2013-0122
39. Duvnjak L, Blaslov K, Vučić Lovrenčić M, Knežević Čuća J. Persons with latent autoimmune diabetes in adults express higher dipeptidyl peptidase-4 activity compared to persons with type 2 and type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016;121:119–126. doi:10.1016/j.diabres.2016.09.013
40. Ishibashi Y, Matsui T, Maeda S, Higashimoto Y, Yamagishi S-I. Advanced glycation end products evoke endothelial cell damage by stimulating soluble dipeptidyl peptidase-4 production and its interaction with mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor. *Cardiovasc Diabetol.* 2013;12(1):125. doi:10.1186/1475-2840-12-125
41. Tahara N, Yamagishi SI, Takeuchi M, et al. Serum levels of advanced glycation end products (AGEs) are independently correlated with circulating levels of dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) in humans. *Clin Biochem.* 2013;46(4–5):300–303. doi:10.1016/j.clinbiochem.2012.11.023
42. Yamagishi S, Fukami K, Matsui T. Crosstalk between advanced glycation end products (AGEs)-receptor RAGE axis and dipeptidyl peptidase-4-incretin system in diabetic vascular complications. *Cardiovasc Diabetol.* 2015;14(1):2. doi:10.1186/s12933-015-0176-5
43. Matsui T, Nishino Y, Takeuchi M, Yamagishi S. Vildagliptin blocks vascular injury in thoracic aorta of diabetic rats by suppressing advanced glycation end product-receptor axis. *Pharmacol Res.* 2011;63(5):383–388. doi:10.1016/j.phrs.2011.02.003
44. Matsui T, Nakashima S, Nishino Y, et al. Dipeptidyl peptidase-4 deficiency protects against experimental diabetic nephropathy partly by blocking the advanced glycation end products-receptor axis. *Lab Invest.* 2015;95(5):525–533. doi:10.1038/labinvest.2015.35
45. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, Yamagishi S. Sitagliptin augments protective effects of GLP-1 against advanced glycation end product receptor axis in endothelial cells. *Horm Metab Res.* 2011;43(10):731–734. doi:10.1055/s-0031-1284383
46. Terasaki M, Yashima H, Mori Y, et al. A dipeptidyl peptidase-4 inhibitor inhibits foam cell formation of macrophages in type 1 diabetes via suppression of CD36 and ACAT-1 expression. *Int J Mol Sci.* 2020;21(13):4811. doi:10.3390/ijms21134811
47. Pala L, Mannucci E, Pezzatini A, et al. Dipeptidyl peptidase-IV expression and activity in human glomerular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;310(1):28–31. doi:10.1016/j.bbrc.2003.08.111
48. Miyazaki M, Kato M, Tanaka K, et al. Increased hepatic expression of dipeptidyl peptidase-4 in non-alcoholic fatty liver disease and its association with insulin resistance and glucose metabolism. *Mol Med Rep.* 2012;5(3):729–733. doi:10.3892/mmr.2011.707
49. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol.* 1986;136(7):2348–2357.
50. Proost P, Struyf S, Schols D, et al. Truncation of macrophage-derived chemokine by CD26/dipeptidyl-peptidase IV beyond its predicted cleavage site affects chemotactic activity and CC chemokine receptor 4 interaction. *J Biol Chem.* 1999;274(7):3988–3993. doi:10.1074/jbc.274.7.3988
51. Willheim M, Ebner C, Baier K, et al. Cell surface characterization of T lymphocytes and allergen-specific T cell clones: correlation of CD26 expression with T(H)1 subsets. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100(3):348–355. doi:10.1016/S0091-6749(97)70248-3
52. Yan S, Gessner R, Dietel C, Schmiedek U, Fan H. Enhanced ovalbumin-induced airway inflammation in CD26^{-/-} mice. *Eur J Immunol.* 2012;42(2):533–540. doi:10.1002/eji.201041038
53. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL, Sorensen O, Bleackley RC, Power RF. IFN-gamma gene expression in pancreatic islet-infiltrating mononuclear cells correlates with autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J Immunol.* 1995;154(9):4874–4882.
54. Sia C. Imbalance in Th cell polarization and its relevance in type 1 diabetes mellitus. *Rev Diabet Stud.* 2005;2(4):182–186. doi:10.1900/RDS.2005.2.182
55. Karlsson Faresjö MGE, Emerudh J, Ludvigsson J. Cytokine profile in children during the first 3 months after the diagnosis of type 1 diabetes. *Scand J Immunol.* 2004;59(5):517–526. doi:10.1111/j.0300-9475.2004.01420.x
56. Karlsson MG, Lawesson SS, Ludvigsson J. Th1-like dominance in high-risk first-degree relatives of type 1 diabetic patients. *Diabetologia.* 2000;43(6):742–749. doi:10.1007/s001250051372
57. Hirai H, Kaino Y, Ito T, Kida K. Analysis of cytokine mRNA expression in pancreatic islets of nonobese diabetic mice. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2000;13(1):91–98. doi:10.1515/JPEM.2000.13.1.91
58. Klemann C, Schade J, Pabst R, et al. CD26/dipeptidyl peptidase 4-deficiency alters thymic emigration patterns and leukocyte subsets in F344-rats age-dependently. *Clin Exp Immunol.* 2009;155(2):357–365. doi:10.1111/j.1365-2249.2008.03839.x
59. Franco R, Valenzuela A, Lluís C, Blanco J. Enzymatic and extraenzymatic role of ecto-adenosine deaminase in lymphocytes. *Immunol Rev.* 1998;161(1):27–42. doi:10.1111/j.1600-065X.1998.tb01569.x
60. Dong RP, Kameoka J, Hegen M, et al. Characterization of adenosine deaminase binding to human CD26 on T cells and its biologic role in immune response. *J Immunol.* 1996;156(4):1349–1355.
61. Dong RP, Tachibana K, Hegen M, et al. Determination of adenosine deaminase binding domain on CD26 and its immunoregulatory effect on T cell activation. *J Immunol.* 1997;159(12):6070–6076.
62. Martin M, Huguet J, Centelles JJ, Franco R. Expression of ecto-adenosine deaminase and CD26 in human T cells triggered by the TCR-CD3 complex. Possible role of adenosine deaminase as costimulatory molecule. *J Immunol.* 1995;155(10):4630–4643.
63. Ohnuma K, Dang NH, Morimoto C. Revisiting an old acquaintance: CD26 and its molecular mechanisms in T cell function. *Trends Immunol.* 2008;29(6):295–301. doi:10.1016/j.it.2008.02.010
64. Liu Z, Christensson M, Forslöv A, De Meester I, Sundqvist KG. A CD26-controlled cell surface cascade for regulation of T cell motility and chemokine signals. *J Immunol.* 2009;183(6):3616–3624. doi:10.4049/jimmunol.0804336
65. Reinhold D, Bank U, Bühlung F, et al. Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV induce secretion of transforming growth factor-β1 in PWM-stimulated PBMC and T cells. *Immunology.* 1997;91(3):354–360. doi:10.1046/j.1365-2567.1997.d01-2258.x
66. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, et al. Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Res.* 2006;212(1):8–27.
67. Zhang N, Schröppel B, Lal G, et al. Regulatory T cells sequentially migrate from inflamed tissues to draining lymph nodes to suppress the alloimmune response. *Immunity.* 2009;30(3):458–469. doi:10.1016/j.immuni.2008.12.022
68. Brode S, Raine T, Zacccone P, Cooke A. Cyclophosphamide-induced type-1 diabetes in the NOD mouse is associated with a reduction of CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells. *J Immunol.* 2006;177(10):6603–6612. doi:10.4049/jimmunol.177.10.6603
69. Tian B, Hao J, Zhang Y, et al. Upregulating CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ regulatory T cells in pancreatic lymph nodes in diabetic NOD mice by adjuvant immunotherapy. *Transplantation.* 2009;87(2):198–206. doi:10.1097/TP.0b013e3181933261
70. Morran MP, Omenn GS, Pietropaolo M. Immunology and genetics of type 1 diabetes. *Mt Sinai J Med.* 2008;75(4):314–327. doi:10.1002/msj.20052
71. Zhao Y, Yang L, Wang X, Zhou Z. The new insights from DPP-4 inhibitors: their potential immune modulatory function in autoimmune diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2014;30(8):646–653. doi:10.1002/dmrr.2530

72. Kim YG, Min SH, Hahn S, Oh TJ, Park KS, Cho YM. Efficacy and safety of the addition of a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor to insulin therapy in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016;116:86–95. doi:10.1016/j.diabres.2016.03.011
73. Davanzo MR, Caliri-Oliveira C, Couri CEB, et al. DPP-4 inhibition leads to decreased pancreatic inflammatory profile and increased frequency of regulatory T cells in experimental type 1 diabetes. *Inflammation.* 2019;42(2):449–462. doi:10.1007/s10753-018-00954-3
74. Pinheiro MM, Pinheiro FM, Torres MA. Four-year clinical remission of type 1 diabetes mellitus in two patients treated with sitagliptin and vitamin D3. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2016;2016:16–0099. doi:10.1530/EDM-16-0099
75. Lima-Martínez MM, Guerra-Alcalá E, Contreras M, Nastasi J, Noble JA, Polychronakos C. One year remission of type 1 diabetes mellitus in a patient treated with sitagliptin. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2014;2014:140072. doi:10.1530/EDM-14-0072
76. Couri CE, Oliveira MC, Stracieri AB, et al. C-peptide levels and insulin independence following autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA.* 2009;301(15):1573–1579. doi:10.1001/jama.2009.470
77. Hari Kumar KV, Shaikh A, Prusty P. Addition of exenatide or sitagliptin to insulin in new onset type 1 diabetes: a randomized, open label study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013;100(2):e55–8. doi:10.1016/j.diabres.2013.01.020
78. Ellis SL, Moser EG, Snell-Bergeon JK, Rodionova AS, Hazenfield RM, Garg SK. Effect of sitagliptin on glucose control in adult patients with type 1 diabetes: a pilot, double-blind, randomized, crossover trial. *Diabetes Med.* 2011;28(10):1176–1181. doi:10.1111/j.1464-5491.2011.03331.x
79. Guo H, Fang C, Huang Y, Pei Y, Chen L, Hu J. The efficacy and safety of DPP4 inhibitors in patients with type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016;121:184–191. doi:10.1016/j.diabres.2016.08.022
80. Wang Q, Long M, Qu H, et al. DPP-4 inhibitors as treatments for type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *J Diabetes Res.* 2018;2018:1–10. doi:10.1155/2018/5308582
81. Johansen O, Boehm B, Grill V, Torjesen P, Bhattacharya S, Patel S. Beta-cell function in latent autoimmune diabetes in adults treated with linagliptin vs glimepiride: exploratory results from a 2-year double-blind randomized controlled study. *Endocr Rev.* 2012;33(4):SUN-LB1.
82. Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993;329(14):977–986.
83. Elashoff M, Matveyenko AV, Gier B, Elashoff R, Butler PC. Pancreatitis, pancreatic, and thyroid cancer with glucagon-like peptide-1-based therapies. *Gastroenterology.* 2011;141(1):150–156. doi:10.1053/j.gastro.2011.02.018
84. Faillie JL, Azoulay L, Patenaude V, Hillaire-Buys D, Suissa S. Incretin based drugs and risk of acute pancreatitis in patients with type 2 diabetes: cohort study. *BMJ.* 2014;348(apr24 1):g2780. doi:10.1136/bmj.g2780
85. Nakamura T, Ito T, Uchida M, et al. PSCs and GLP-1R: occurrence in normal pancreas, acute/chronic pancreatitis and effect of their activation by a GLP-1R agonist. *Lab Invest.* 2014;94(1):63–78. doi:10.1038/labinvest.2013.133
86. Butler PC, Elashoff M, Elashoff R, Gale EA. A critical analysis of the clinical use of incretin-based therapies: are the GLP-1 therapies safe? *Diabetes Care.* 2013;36(7):2118–2125. doi:10.2337/dc12-2713
87. Gier B, Matveyenko AV, Kirakossian D, Dawson D, Dry SM, Butler PC. Chronic GLP-1 receptor activation by exendin-4 induces expansion of pancreatic duct glands in rats and accelerates formation of dysplastic lesions and chronic pancreatitis in the Kras(G12D) mouse model. *Diabetes.* 2012;61(5):1250–1262. doi:10.2337/db11-1109
88. Dicembrini I, Monerreggi C, Nreu B, Mannucci E, Monami M. Pancreatitis and pancreatic cancer in patients treated with dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: an extensive and updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Res Clin Pract.* 2020;159:107981. doi:10.1016/j.diabres.2019.107981
89. White WB, Cannon CP, Heller SR, et al. Alogliptin after acute coronary syndrome in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2013;369(14):1327–1335. doi:10.1056/NEJMoa1305889
90. Scirica BM, Bhatt DL, Braunwald E, et al. Saxagliptin and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2013;369(14):1317–1326. doi:10.1056/NEJMoa1307684
91. Tricco AC, Antony J, Khan PA, et al. Safety and effectiveness of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors versus intermediate-acting insulin or placebo for patients with type 2 diabetes failing two oral antihyperglycaemic agents: a systematic review and network meta-analysis. *BMJ Open.* 2014;4(12):e005752. doi:10.1136/bmjopen-2014-005752
92. Monami M, Dicembrini I, Martelli D, Mannucci E. Safety of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Curr Med Res Opin.* 2011;27(Suppl 3):57–64. doi:10.1185/03007995.2011.602964

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy

Dovepress

Publish your work in this journal

Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy is an international, peer-reviewed open-access journal committed to the rapid publication of the latest laboratory and clinical findings in the fields of diabetes, metabolic syndrome and obesity research. Original research, review, case reports, hypothesis formation, expert opinion

and commentaries are all considered for publication. The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

Submit your manuscript here: <https://www.dovepress.com/diabetes-metabolic-syndrome-and-obesity-targets-and-therapy-journal>

Identifying congenital generalized lipodystrophy using deep learning- DEEPLIPO

Natália Bitar da Cunha Olegario

Federal University of Ceará

Joel Sotero da Cunha Neto

University of Fortaleza

Paulo Cirillo Souza Barbosa

University of Fortaleza

Plácido Rogério Pinheiro

University of Fortaleza

Pedro Lino Azevêdo Landim

University of Fortaleza

Ana Paula Dias Rangel Montenegro

Federal University of Ceará

Virginia Oliveira Fernandes

Federal University of Ceará

Victor Hugo Costa de Albuquerque

Federal University of Ceará

João Batista Furlan Duarte

University of Fortaleza

Grayce Ellen da Cruz Paiva Lima

Federal University of Ceará

Renan Magalhães Montenegro Junior (✉ renanmmjr@gmail.com)

Federal University of Ceará

Article

Keywords: Congenital Generalized Lipodystrophy, Screening, Diagnosis, Phenotype, Deep learning

Posted Date: May 26th, 2022

DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1649906/v1>

License:  This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

[Read Full License](#)

Abstract

Congenital Generalized Lipodystrophy (CGL) is a rare autosomal recessive disease characterized by near complete absence of functional adipose tissue from birth. CGL diagnosis can be based on clinical data including acromegaloid features, acanthosis nigricans, reduction of total body fat, muscular hypertrophy, and protrusion of the umbilical scar. The identification and knowledge of CGL by the health care professionals is crucial once it is associated with severe and precocious cardiometabolic complications and poor outcome. Image processing by deep learning algorithms have been implemented in medicine and the application into routine clinical practice is feasible. Therefore, the aim of this study was to identify congenital generalized lipodystrophy phenotype using deep learning. A deep learning approach model using convolutional neural network was presented as a detailed experiment with evaluation steps undertaken to test the effectiveness. These experiments were based on CGL patient's photography database. The dataset consists of two main categories (training and testing) and three subcategories containing photos of patients with CGL, individuals with malnutrition and eutrophic individuals with athletic build. A total of 337 images of individuals of different ages, children and adults were carefully chosen from internet open access database and photographic records of stored images of medical records of a reference center for inherited lipodystrophies. For validation, the dataset was partitioned into four parts, keeping the same proportion of the three subcategories in each part. The 4-fold cross-validation technique was applied, using 75% (3 parts) of the data as training and 25% (1 part) as a test. Following the technique, 4 tests were performed, changing the parts that were used as training and testing until each part was used exactly once as validation data. As a result, a mean accuracy, sensitivity, and specificity were obtained with values of $[90.85\% \pm 2.20\%]$, $[90.63\% \pm 3.53\%]$ and $[91.41\% \pm 1.10\%]$, respectively. In conclusion, this study presented for the first time a deep learning model able to identify congenital generalized lipodystrophy phenotype with excellent accuracy, sensitivity and specificity, possibly being a strategic tool for detecting this disease.

Introduction

Congenital Generalized Lipodystrophy (CGL) is a rare autosomal recessive disease characterized by near complete absence of functional adipose tissue from birth. That reduction of energy deposition culminates to ectopic lipid accumulation in tissues such as muscle, liver, heart and arterial wall. Consequently, there is a severe and early insulin resistance, diabetes mellitus, hepatic steatosis and premature atherosclerotic disease, which may lead to early death [1, 2].

CGL diagnosis can be based on clinical data including acromegaloid features, acanthosis nigricans, reduction of total body fat, muscular hypertrophy and protrusion of the umbilical scar. Also, laboratory data and imaging tests can show other important health information. The identification and knowledge of CGL by the health care professionals is crucial once it is associated with severe and precocious cardiometabolic complications and poor outcome. Although CGL patient phenotype be quite characteristic, the rarity of this disease and its misdiagnosis with common conditions like undernutrition

and athletic shape make difficult an early detection of cases, which may significantly improve the prognosis of these patients [3].

Image processing may be crucial in phenotyping, diagnosis, and even the identification of rare new diseases [5]. Artificial intelligence (AI), mainly through machine learning, provides algorithms capable of learning from data. Images are one of the types of data that AI, namely deep learning, is more fruitful at analyzing [5]. Convolutional neural networks (CNNs) automatically detect patterns of interest in images and have demonstrated image classification performance above the level of humans, [4]. Deep learning algorithms have been implemented in medicine and the application into routine clinical practice is feasible [6], thus it is an interesting strategy to assist the health professional in the diagnosis for the proper management of patients with rare diseases. Therefore, the aim of this study was to identify congenital generalized lipodystrophy phenotype using deep learning.

Materials And Methods

A deep learning approach model was presented as a detailed experiment with evaluation steps undertaken to test the effectiveness. These experiments were based on CGL patient's photography database. To build and train the convolutional neural network model, it was used Python 3 and some libraries to help, such as Numpy v1.17.4 and Tensorflow v1.15. All experiments were run on a standard PC without a GPU card and a i5-4210u processor.

This study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the University Hospital Walter Cantidio Ethics Committee, Fortaleza, Ceara, Brazil (n° 5.364.464). All the patients and their families gave formal consent to participate in the study by signing the free informed consent form prior to their inclusion.

The dataset consists of two main categories (training and testing) and three subcategories containing photos of patients with CGL, individuals with malnutrition and eutrophic individuals with athletic build. A total of 337 images of individuals of different ages, children and adults were carefully chosen from internet open access database and photographic records of stored images of medical records of a reference center for inherited lipodystrophies. In the search for photographic records published on open access platforms, a literature review was carried out. The searches were carried out in the Lilacs, PubMed and Scielo databases. Descriptors and their combinations in Portuguese and English were used with Boolean operators: "Congenital Generalized Lipodystrophy" OR "Berardinelli-Seip Syndrome" AND "physiopathological mechanisms" OR "phenotype" OR "clinical characteristics"; "Malnutrition" AND "physiopathological mechanisms" OR "phenotype" OR "clinical characteristics".

There was no standardization for the acquisition or selection of photographic images of the patients. The clinical history of the 22 patients followed up at the outpatient referral clinic, whose images were included in the analysis, was assessed through medical records.

Several data augmentation methods were employed to artificially increase the size and quality of the dataset. This process helps in solving overfitting problems and enhances the model's generalization ability during training.

In order to carry out the data augmentation process, geometric transformation techniques were used. Some images were rotated and zoomed using angles arbitrarily chosen by the author. In total, 8 processes were chosen, 6 of which consisted of rotating 45, 90, 180°, -90, -50 or -45 degrees. And the other 2 consist of zooming the image and rotating 18° or 114°. At the end of the process, a database was obtained with a total of 896 images.

The architecture of the proposed CNN model consists of two major phases: the feature extraction and the classification (Fig. 1). However, before images are sent to the network, it is necessary to make transformations to the images. These consist of converting to grayscale, resizing and normalization. After carrying out these transformations, it is necessary to concatenate each transformed image in a large matrix, which is sent to the first layer of CNN. In this work, the feature extraction phase consists of using two pooling layers with a 2x2 filter and two convolutional layers with the ReLu function to increase the non-linearity of the output and each layer of the attribute extraction phase receives information from the previous layer, the data in the output layer, in turn, is passed as input to the subsequent layer. At the end of the first phase, and with the model already trained, the classification of patients with or without CGL is made by the fully connected network, and for this work we used three hidden layers with 1024 artificial neurons at each.

The hyperparameters used to configure the CNN are shown in Table 1. In this, it is possible to identify that the amounts of convolution and hidden layers are smaller than the amounts of neurons per layers. This motivation was due to the fact that the computational cost increases exponentially when increasing the number of layers. Another hyperparameter that can be highlighted is the activation function, which is present in all neurons, except those present in the output layer, which use the sigmoidal function.

Table 1
– Model Hyperparameters

Number of convolutional layers	2
Filter feature order	[2x2]
Number of pooling layers	2
Learning rate	0,001
Number of neurons per layer	1024
Turn-off neurons percentage	0,2
Activation Function	ReLu
Maximum Number of Epochs	600
Number of hidden layer	5

For validation, the dataset was partitioned into four parts, keeping the same proportion of the three subcategories in each part. The 4-fold cross-validation technique was applied, using 75% (3 parts) of the data as training and 25% (1 part) as a test. Following the technique, 4 tests were performed, changing the parts that were used as training and testing until each part was used exactly once as validation data (Fig. 2).

Results

In addition to the images extracted from open access platforms, photographic records of 22 CGL patients followed in a referral clinic were used. The mean age was 14.6 ± 10.7 years, 68.2% (15/22) were younger than 18 years old, and 59% (13/22) were women. The mean age of participants in the group < 18 years was 8.3 ± 4.7 years, and in the group ≥ 18 years was 28.0 ± 6.2 years. The mean age at CGL diagnosis was 7.4 ± 11.1 years, ranging from one month to 38 years of age. All the patients had hypoleptinemia, 95.4% (21/22) had low HDL-c, 86.4% (19/22) had hypertriglyceridemia, 68.2% (15/22) diabetes, 50% (11/22) hepatic steatosis, 41% (9/22) insulin resistance, 41% (9/22) hypercholesterolemia, and 18.2% (4/22) hypertension. Genetic analysis was performed in only 45.4% (10/22) of the patients. AGPAT2 and BSCL2 gene mutations were identified in 40% (4/10) and 60% (6/10) of them, respectively.

After applying cross-validation, the results associated with each of the four subgroups were composed. Initially, confusion matrices were used to visualize the true positives (TP) and negatives (TN), as well as the false positives (FP) and negatives (FN). With these values, which are shown in Fig. 3, it is possible to raise the capacity that the model generated by the CNN network has in classifying patients with or without CGL. In Fig. 3, in all four subgroups, true positives and negatives have a predominance in relation

to false positives and negatives, which is an initial indication showing the good generalization capacity of the chosen model.

With the data obtained from each confusion matrix, other indicators of the model's performance can be measured, such as accuracy, sensitivity, and specificity. The first is indicative of true positive and negative with respect to all cases evaluated. Sensitivity and specificity, which are illustrated respectively, are similar indicatives. The first is the model's ability to correctly predict when the patient does not have CGL, whereas with specificity it is able to correctly predict patients who have CGL.

The mean accuracy, specificity, and sensitivity were obtained with values of [90.85% \pm 2.20%], [90.63% \pm 3.53%] and [91.41% \pm 1.10%], respectively. Regarding the ability to correctly identify patients with CGL, although the test with subset D did not obtain a result above 80%, on sensitivity, it still had a good classification capacity. In terms of specificity, all subsets obtained a rate above 90%, this is a result that coincides with the reality of the data set, since there is a certain level of control in the images of patients without LGC (Table 2). Finally, it is also noted that the computational cost measured in the training stage is also similar for each of the subsets, and this is a relatively low time compared to models with many hidden layers and neurons by layers.

Table 2
Results from k-fold CV.

Training	Test	Accuracy	Specificity	Sensitivity	Computational costs (minutes)
A, B, C	D	89.29%	93.75%	78.13%	25.40
A, B, D	C	92.86%	93.75%	90.63%	26.00
A, C, D	B	89.29%	88.13%	92.19%	25.10
B, C, D	A	92.41%	93.13%	90.63%	27.00
	Mean	90.85%	90.63%	91.41%	25.88
	Standard deviation	2.21%	3.53%	1.10%	0.8382

Discussion

It is estimated that there are more than 7000 rare diseases worldwide, 80% of which are of genetic origin and approximately 75% affect children [7, 8]. Although individually rare, collectively, these diseases affect about 350 million people [9, 10]. The lack of knowledge about the true frequency of the disease and about specific diagnostic criteria, as well as the lack of official clinical guidelines and the small number

of geographically dispersed patients, hinder the clinical diagnosis and recruitment of these patients for clinical research [11, 12].

Images, one of the types of data that artificial intelligence is more productive in analysis, can be used in phenotyping, diagnosis and even in the identification of rare new diseases [13]. This is the first study to present a deep learning model for the analysis of photographic image of CGL patients and identification of phenotypic characteristics.

CGL is a low prevalence condition, affecting 1: 10,000,000 live births, but it is believed that of every four existing cases, only one is reported. Between 300 and 500 patients affected by LGC have already been reported in the medical literature [14], with a greater concentration of cases in Lebanon, Brazil, Portugal, Scandinavia, as well as in families with African ancestors [15, 16].

The phenotype of the CGL patients is quite characteristic and appear early, in the first years of life, however the rarity of this disease and the lack of knowledge of health professionals make it difficult to identify the clinical manifestations. Many features of the syndrome can be identified through close observation during clinical evaluation. The scarcity of subcutaneous adipose tissue gives patients a characteristic muscular appearance (muscular pseudohypertrophy) with prominence of superficial subcutaneous veins. acromegalic facies, large hands and feet, acanthosis nigricans and umbilical protrusion can also be observed [14].

Other diseases or disorders in nutritional status may have similar clinical manifestations and physical characteristics. Thus, the development of technologies that involve machine learning can assist clinical evaluation, especially in conditions where remote assistance may be necessary.

LipoDDx® is a free mobile application for the identification of different subtypes of lipodystrophies, which is effective in approximately 80% of cases in this first validation process. This is the first app to allow identification of a set of heterogenous rare diseases, however, a sequence of responses is requested, with no photographic analysis as strategy for identifying diseases, as proposed in the present study [17]. Gurovich Y et al (2019) presented a facial analysis framework for genetic syndrome classification called DeepGestalt [18]. This framework leverages deeplearning technology and learns facial representation from a largescale face-recognition dataset, followed by knowledge transfer to the genetic syndrome domain through fine-tuning.

The proposed method presents more insights in the applicability of deep learning methods for detection of phenotype in rare disease. In future work we intend to evaluate a algorithm for automatic detection of a genotype-phenotype correlation.

In conclusion, this study presented for the first time a deep learning model able to identify congenital generalized lipodystrophy phenotype with good accuracy and sensitivity, above 90%, even when using tests with confusing images, with similar characteristics. These deep learning algorithms can be implemented into routine clinical practice, assisting health professionals in the diagnosis of patients with

this rare disease. The use of this tool through cell phone applications will facilitate access to this technology, reaching health services in the most remote regions and transforming patient care.

Declarations

Author contributions

All authors contributed to data analysis, drafting and revising the article, gave final approval of the version to be published, and agree to be accountable for all aspects of the work.

Data availability

The datasets used and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Conflict of interest

The authors had no conflicts of interest.

Funding

This study did not have funding.

References

1. Garg A. Acquired and inherited lipodystrophies. *N Engl J Med.* 18;350(12):1220-34 (2004).
2. Nelson, M.D. *et al.* Cardiac steatosis and left ventricular hypertrophy in patients with generalized lipodystrophy as determined by magnetic resonance spectroscopy and imaging. *Am J Cardiol.* 1;112(7):1019-24 (2013).
3. Lima, J.G., Dos Santos, M.C.F., de Melo Campos, J.T.A. Congenital Generalized Lipodystrophy. *J Rare Dis Res Treat.* 3(2): 1-6 (2018).
4. Russakovsky, O. *et al.* ImageNet Large Scale Visual Recognition Challenge. *Int J Comput Vis.* 115, 211–252 (2015).
5. Smith, K., Piccinini, F., Balassa, T., Koos, K., Danka, T., Azizpour, H., Horvath, P. Phenotypic Image Analysis Software Tools for Exploring and Understanding Big Image Data from Cell-Based Assays. *Cell Syst.* 6, 636–653 (2018).
6. Sánchez Fernández, I. *et al.* Deep learning in rare disease. Detection of tubers in tuberous sclerosis complex. *PLOS ONE.* 15(4): e0232376 (2020).
7. Sernadela, P. *et al.* Linked Registries: Connecting Rare Diseases Patient Registries through a Semantic Web Layer. *BioMed Res. Int.* 1–13 (2017).
8. Ekins, S. Industrializing rare disease therapy discovery and development. *Nat. Biotechnol.* 35, 117–118 (2017).

9. About Rare Diseases. Available online: <https://www.eurordis.org/about-rare-diseases> (accessed on 12 may 2022).
10. Ronicke, S., Hirsch, M.C., Turk, E., Larionov, K., Tientcheu, D., Wagner, A.D. Can a decision support system accelerate rare disease diagnosis? Evaluating the potential impact of Ada DX in a retrospective study. *Orphanet J. Rare Dis.* 14, 69 (2019).
11. Nestler-Parr, S. *et al.* Challenges in Research and Health Technology Assessment of Rare Disease Technologies: Report of the ISPOR Rare Disease Special Interest Group. *Value Health.* 21, 493–500 (2018).
12. Stoller, J.K. The Challenge of Rare Diseases. *Chest.* 153, 1309–1314 (2018).
13. Smith, K. *et al.* Phenotypic Image Analysis Software Tools for Exploring and Understanding Big Image Data from Cell-Based Assays. *Cell Syst.* 6, 636–653 (2018).
14. Patni, N., Garg, A. Congenital generalized lipodystrophies–new insights into metabolic dysfunction. *Nat. Rev. Endocrinol.* v. 11, n. 9, p. 522-34 (2015).
15. Magre, J. *et al.* Identification of the gene altered in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy on chromosome 11q13. *Nat. Genet.* v. 28, n. 4, p. 365-70 (2001).
16. NOLIS, T. Exploring the pathophysiology behind the more common genetic and acquired lipodystrophies. *J. Hum. Genet.* v. 59, n. 1, p. 16-23, (2014).
17. Araújo-Vilar, D. *et al.* LipoDDx: a mobile application for identification of rare lipodystrophy syndromes. *Orphanet J Rare Dis.* 15, 81 (2020).
18. Gurovich, Y. *et al.* Identifying facial phenotypes of genetic disorders using deep learning. *Nat Med.* 25, 60–64 (2019).

Figures

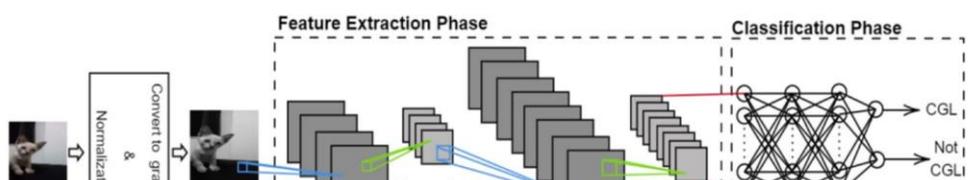


Figure 1

Proposed model for CNN

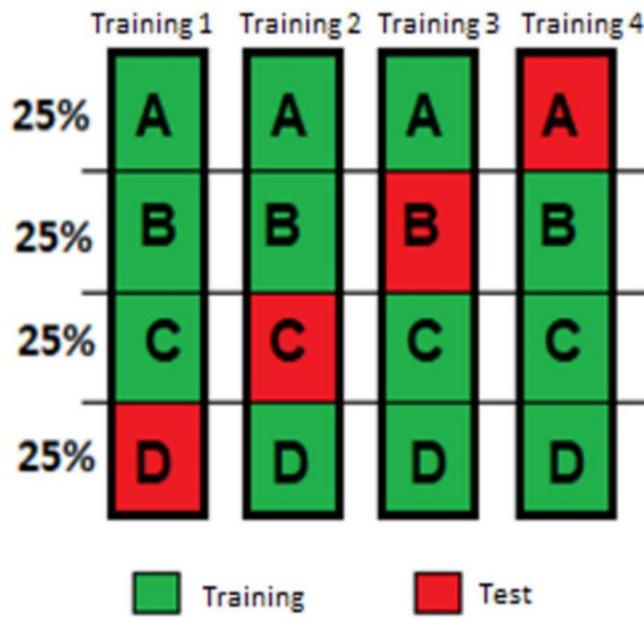


Figure 2

4-fold cross validation

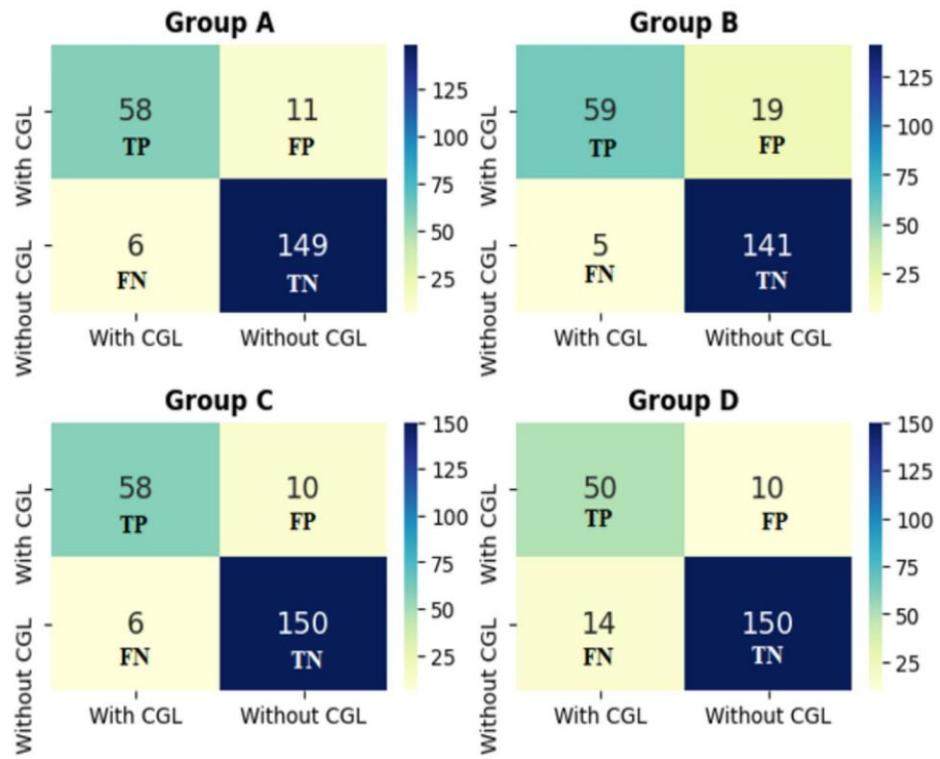


Figure 3

Confusion Matrices for each fold