



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

MARIANA LIMA MASCARENHAS MOREIRA

**A relação entre os tecidos adiposo e ósseo em indivíduos com lipodistrofia
parcial familiar**

Ribeirão Preto

2023

MARIANA LIMA MASCARENHAS MOREIRA

**A relação entre os tecidos adiposo e ósseo em indivíduos com lipodistrofia
parcial familiar**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Clínica Médica

Orientador: Prof. Dr. Francisco José
Albuquerque de Paula

Ribeirão Preto

2023

Autorizo a divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Moreira, Mariana Lima Mascarenhas

A relação entre os tecidos adiposo e ósseo em indivíduos com lipodistrofia parcial familiar, 2023.

120 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Área de concentração: Clínica Médica

Orientador: de Paula, Francisco José Albuquerque

1. Lipodistrofia 2. Resistência insulínica 3. Densidade mineral óssea 4. TBS 5. Tecido adiposo de medula óssea

MOREIRA, M. L. M. A relação entre os tecidos adiposo e ósseo em indivíduos com lipodistrofia parcial familiar. 2023. Tese – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Aprovada em: 04 de outubro de 2023

Banca Examinadora

Prof. Dr. Carolina Aguiar Moreira

Instituição: Universidade Federal do Paraná

Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Renan Magalhães Montenegro Junior

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Fernanda Fernandes Souza

Instituição: Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto

Julgamento: Aprovada

DEDICATÓRIA

Ao Renato, meu esposo e companheiro de todos os momentos, pela compreensão e amizade, e por me fazer sorrir e cantar nos momentos difíceis.

Aos meus pais e irmã, que cultivaram em mim as sementes da leitura e da busca do conhecimento, que hoje frutificam na forma dessa tese.

À minha filha, que esteve comigo durante a elaboração deste trabalho, participando à sua maneira e ditando o ritmo da escrita.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

Agradeço ao professor Francisco José Albuquerque de Paula pelos ensinamentos, na ciência e na vida, e seu apoio alviverde durante a realização do trabalho.

Agradeço ao professor Carlos Ernesto Garrido Salmon pelas orientações técnicas na concretização deste trabalho.

Agradeço à professora Sandra Yasuyo Fukada pelas orientações e espaço cedido para realização desta pesquisa.

Agradeço à Marta Tocico Nakao Inouye Maibashi pela disponibilidade e ajuda irrestritas na execução deste trabalho, e à Maria Fernanda Toste Brondi, pela curadoria de imagem e vídeos durante o percurso.

Agradeço aos técnicos da Endocrinologia pela amizade e companhia: Maria Yoshiko Matuyama, Priscila Dias Pereira, José Roberto Silva, Wendy Turatti e Aline Turatti.

Agradeço à Iana Mizumukai de Araújo, que trilhou primeiro esse caminho e forneceu os ensinamentos que tornaram essa jornada menos árdua.

Agradeço às minhas amigas Mayra Macena Gomes e Natália Rossin Guidorizzi por me acolherem em suas casas, e fornecerem companhia, alimentação e conhecimento técnico de qualidade.

Agradeço às minhas colegas de trabalho pela convivência e por também viverem essa jornada: Maisa Monseff Rodrigues da Silva, Sandra Viviana Zorro Rodriguez, Beatriz Coimbra e Luciana Parreiras e Silva.

Agradeço aos técnicos da densitometria e ressonância magnética, Karina, Rodrigo e Luciana, pelo cuidado ímpar com pacientes e voluntários na realização dos exames.

Agradeço aos colegas pós-graduandos Lucas Gabriel Rodrigues Venturini e Letícia Fernanda Duffles Rodrigues por ensinarem, com muita paciência, a cultivar clastos.

Agradeço a todos os pacientes e voluntários, que mesmo com a pandemia, disponibilizaram-se a participar deste trabalho

“Os seres humanos podem ansiar pela certeza absoluta; podem aspirar a alcançá-la; podem fingir, como fazem os partidários de certas religiões, que a atingiram. Mas a história da ciência – de longe o mais bem-sucedido conhecimento acessível aos humanos – ensina que o máximo que podemos esperar é um aperfeiçoamento sucessivo de nosso entendimento, um aprendizado por meio de nossos erros, uma abordagem assintótica do Universo, mas com a condição de que a certeza absoluta sempre nos escapará”.

(Sagan, 1995)

RESUMO

Moreira, MLM. **A relação entre os tecidos adiposo e ósseo em indivíduos com lipodistrofia parcial familiar**. Ribeirão Preto. Tese [Doutorado em Ciências Médicas] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2023.

A lipodistrofia parcial familiar (LPF) pertence a um grupo de doenças heterogêneas quanto à distribuição de gordura, associada a redução periférica do tecido adiposo, resistência insulínica (RI) e surgimento precoce de diabetes mellitus (DM). As doenças metabólicas e cardiovasculares têm atraído atenção de diversos grupos de pesquisa, enquanto existe escassez de dados sobre a doença esquelética nesta situação. O objetivo deste trabalho foi aprimorar a compreensão sobre a distribuição de tecido adiposo dos pacientes com LPF e caracterizar o fenótipo ósseo, bem como avaliar o impacto da RI e da deposição ectópica de gordura, em especial do tecido adiposo de medula óssea (TAMO) e dos lipídios musculares (IMCL e EMCL), sobre o tecido ósseo. Neste estudo transversal, 23 controles foram pareados com 20 pacientes LPF por idade, sexo e peso. Foram realizados exames bioquímicos gerais, e dosagens específicas de adipocinas e marcadores de remodelamento ósseo. A densitometria óssea foi usada para estimar a densidade mineral óssea (DMO), composição corporal e escore trabecular ósseo (TBS). A espectroscopia de ^1H por ressonância magnética da coluna lombar, tíbia proximal e músculo sóleo foi empregada para avaliar a deposição de lipídios. Ainda, foi realizada cultura de osteoclastos, a partir de células do sangue periférico, para avaliar o potencial de osteoclastogênese. Os resultados mostram prevalência alta de DM e dislipidemia na LPF, enquanto leptina e osteocalcina séricas foram baixas nesses pacientes. A DMO foi similar entre os grupos em todos os sítios, exceto no rádio 33%, que foi menor na LPF. O TBS também foi reduzido na LPF. O TAMO total e a fração saturada de lipídios na coluna lombar (L3), bem como o IMCL foram mais elevados no grupo LPF que no controle. O mesmo ocorreu em relação à osteoclastogênese, que estava aumentada. Os dados mostram que não houve associação de TAMO, IMCL e diferenciação de osteoclastos com a DMO ou TBS, enquanto a leptina associou-se positivamente com o TBS. Já o índice de resistência insulínica HOMA-IR e EMCL apresentaram relação negativa com TBS, enquanto a osteocalcina e o EMCL tiveram associação negativa com a DMO. Esses dados contribuem para refinar o conhecimento sobre o padrão de distribuição do

tecido adiposo na LPF, que é preservado na medula óssea e no tecido muscular. Os dados também são originais quanto ao fenótipo ósseo nesses pacientes, com comprometimento do TBS e da massa óssea no rádio 33%, sítio com predomínio de osso cortical. Os achados desse trabalho reforçam que parâmetros de RI não têm associação negativa com quantidade, mas sim com qualidade óssea. Portanto, diferentemente da obesidade e do DM2, na LPF existe prejuízo de manutenção da massa óssea do rádio 33%.

Palavras-chave: lipodistrofia, resistência insulínica, densidade mineral óssea, TBS, tecido adiposo de medula óssea

ABSTRACT

Moreira, MLM. **Relationship between bone and adipose tissue in subjects with familial partial lipodystrophy.** Ribeirão Preto. Tese [Doutorado em Ciências Médicas] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2023.

Familial partial lipodystrophy (FPLD) belongs to a group of diseases which are heterogeneous regarding fat distribution. These patterns of fat distribution are associated with loss of peripheral adipose tissue, insulin resistance (IR) and precocious diabetes *mellitus* (DM). Metabolic and cardiovascular diseases have drawn the attention of several research groups, since scarce data about skeletal disease in this situation is available. The aim of this study was to deepen the understanding of adipose tissue distribution in FPLD patients and characterize bone phenotype, as well as to evaluate the impact of IR and ectopic fat deposition, particularly bone marrow adipose tissue (BMAT) and muscular lipids (IMCL and EMCL), on bone tissue. In this cross-sectional study, 23 controls and 20 FPLD patients were matched by age, sex and weight. Biochemical exams and specific dosages of adipokines and bone remodeling markers were done. Bone densitometry was used to estimate bone mineral density (BMD), body composition and trabecular bone score (TBS). ¹H-spectroscopy using magnetic resonance of lumbar spine, proximal tibia and soleus muscle was performed to estimate lipid deposition. Lastly, osteoclast culture derived from peripheral blood cells was utilized to assess osteoclastogenesis. The results show high prevalence of DM and dyslipidemia in FPLD, whereas leptin and osteocalcin were reduced in these patients. BMD was similar between groups in all sites, except 1/3 radius, where it was lower in FPLD. TBS was also reduced in FPLD. Total BMAT and saturated lipids fraction in lumbar spine (L3), as well as IMCL were increased in FPLD compared to control. Likewise, osteoclastogenesis was augmented. The present data show no association of BMAT, IMCL and osteoclast differentiation with BMD or TBS, whereas leptin was positively associated with TBS. Nonetheless, insulin resistance indexes HOMA-IR and EMCL exhibited a negative relationship with TBS, while osteocalcin and EMCL were negatively associated with BMD. These data contribute to refine the knowledge on adipose tissue distribution pattern in FPLD, conserved in BMAT and muscle tissue. The data regarding bone phenotype in these patients, with

deteriorated microarchitecture and cortical bone in the forearm, is also original. The findings of this study reinforce that IR parameters exhibit no negative association with bone quantity, but quality. Therefore, differently from obesity and T2DM, maintenance of bone mass in 1/3 radius is impaired in FPLD.

Key-words: lipodystrophy, insulin resistance, bone mineral density, TBS, bone marrow adipose tissue

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Pacientes com LPF acompanhadas no ambulatório de Diabetes do HCFMRP-USP.....	25
Figura 2 – Linha do tempo da coleta e realização de exames de sangue e culturas de osteoclastos com sangue fresco, ressonância magnética, densitometria óssea e posterior ensaio de amostras congeladas	40
Figura 3 – Espectro obtido por meio de exame de ressonância magnética de hidrogênio, processada no software LCModel. As áreas sob a curva correspondem à quantidade de água e gordura na vértebra. A imagem da coluna mostra o voxel posicionado em L3	43
Figura 4 – Espectro obtido por meio de exame de ressonância magnética de hidrogênio, processada no software LCModel. As áreas sob a curva correspondem à quantidade de lipídios intra (0,9; 1,3 e 2,1 ppm) e extramioelular (1,1; 1,5 e 2,3 ppm) no músculo sóleo	44
Figura 5 – Representação esquemática do processamento das amostras de células mononucleares do sangue periférico (PBMC), cultura celular dos monócitos nos meios de cultura e posterior análise por coloração Giemsa, nas placas de 96 poços	45
Figura 6 – Glicemia de jejum e hemoglobina glicada do grupo controle e lipodistrofia (LPF)	49
Figura 7 – Gráfico de frequências das medicações usadas no grupo lipodistrofia	50
Figura 8 – Escore trabecular ósseo (TBS) do grupo controle (C) e lipodistrofia (LPF2)	55
Figura 9 – Distribuição de controles e pacientes LPF2 conforme risco de fratura (A) e microarquitetura óssea (B) pelo TBS	56
Figura 10 – Sombras de gordura (Fat Shadows), obtidas por meio da densitometria óssea, de 5 pacientes e 5 controles	59
Figura 11 – Tecido adiposo de medula óssea (TAMO) total e fração saturada em coluna lombar dos grupos controle e LPF2	60

Figura 12 – Número médio de células por poço e área de diferenciação dos osteoclastos e em controles e pacientes com lipodistrofia (LPF2)	62
Figura 13 – Mapa de calor representando as correlações de Spearman entre variáveis de composição corporal e parâmetros bioquímicos	63
Figura 14 – Mapa de calor representando as correlações de Spearman entre parâmetros bioquímicos e variáveis da densitometria.	65
Figura 15 – Gráfico de dispersão entre as variáveis glicemia de jejum, hemoglobina glicada e escore trabecular ósseo (TBS) da coluna lombar, não ajustadas para sexo, idade, IMC e DM2	68
Figura 16 – Gráfico de dispersão entre o índice HOMA-IR e escore trabecular ósseo (TBS) da coluna lombar, ajustado para sexo, idade, IMC e DM2	69
Figura 17 – Mapa de calor representando a correlação de Spearman entre variáveis da ressonância e exames bioquímicos	70
Figura 18 – Mapa de calor representando a correlação de Spearman entre parâmetros bioquímicos, de ressonância e densitometria	72
Figura 19 – Gráfico de dispersão entre a gordura extramiocelular (EMCL) e escore trabecular ósseo (TBS) da coluna lombar após ajuste para sexo, idade, IMC e DM2	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características gerais e antropométricas dos participantes	47
Tabela 2 – Características genéticas, clínicas e bioquímicas do grupo lipodistrofia	48
Tabela 3 – Resultados dos exames bioquímicos de controles e todos os pacientes	51
Tabela 4 – Resultados dos exames bioquímicos do grupo LPF2 e pacientes LPF3	52
Tabela 5 – Resultados da densitometria óssea de controles e pacientes	53
Tabela 6 – Dados descritivos da densitometria óssea do grupo LPF2 e pacientes LPF3	54
Tabela 7 – Resultados da composição corporal por densitometria óssea dos grupos controle e lipodistrofia	57
Tabela 8 – Resultados da composição corporal por densitometria óssea do grupo LPF2 e pacientes LPF3	58
Tabela 9 – Resultados da espectroscopia na coluna (L3), tíbia esquerda e músculo sóleo dos grupos controle e LPF2	61
Tabela 10 – Resultados da espectroscopia na coluna, tíbia esquerda e músculo sóleo do grupo LPF2 e pacientes LPF3	61
Tabela 11 – Correlação entre adipocinas e variáveis bioquímicas	64
Tabela 12 – Resultados da regressão linear entre GJ, HbA1c e osteocalcina, densitometria e ressonância antes e após ajustes para sexo, idade, IMC e diabetes mellitus	66
Tabela 13 – Correlação entre a densidade mineral óssea e parâmetros de composição corporal	67
Tabela 14 – Resultados da regressão linear entre variáveis bioquímicas e TBS antes e após ajustes para sexo, idade, IMC e diabetes mellitus	69

Tabela 15 – Resultados da regressão linear entre exames de bioquímica, densitometria e ressonância antes e após ajustes para sexo, idade, IMC e diabetes mellitus	73
Tabela 16 – Correlação entre a área de diferenciação de osteoclastos, adipocinas e densidade mineral óssea	74

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

25(OH)D	25-hidroxi-vitamina D
A1c	Hemoglobina glicosilada
AB	Antebraço
A/G	Relação androide/ginoide
C	Grupo controle
CF	Colo do fêmur
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DMO	Densidade mineral óssea
DXA	Densitometria óssea
EMCL	Gordura extramiocelular
FMI	Fat Mass Index, índice de massa gorda
FMR	Fat Mass Ratio
FNIH	Índice para avaliação de sarcopenia
GJ	Glicemia de jejum
%GMMII	Percentual de gordura em membros inferiores
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HDLc	Lipoproteína de alta densidade
HOMA-IR	Índice de resistência insulínica
IMC	Índice de massa corporal
IMCL	Gordura intramiocelular
IMG	Índice de massa gorda
IMM	Índice de massa magra
INS	Insulina
L1-L4	Coluna lombar

L3	Terceira vértebra da coluna lombar
LDLc	Lipoproteína de baixa densidade
LEP	Leptina
LGC	Lipodistrofia generalizada congênita
LPF	Lipodistrofia parcial familiar
m	Metros
M-CSF	Fator estimulador de colônia de macrófagos
mg	Miligramas
mm	Milímetros
ppm	Partes por milhão
PTH	Paratormônio
QT	Quadril total
RANK-L	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa β
RM	Ressonância magnética
TAMO	Tecido adiposo de medula óssea
TAMO COL TOT	Tecido adiposo de medula óssea total
TAMO COL SAT	Tecido adiposo de medula óssea fração saturada
TAMO INSAT	Tecido adiposo de medula óssea fração insaturada
TASC	Tecido adiposo subcutâneo
TAV	Tecido adiposo visceral
TE	Tempo de eco
TBS	Escore trabecular ósseo
TGO	Transaminase glutâmica oxalacética
TGO	Transaminase glutâmica pirúvica
TR	Tempo de repetição
TSH	Hormônio tireoestimulante

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
/mm, mm ²	Milímetro, Milímetro quadrado
B	Beta
ρ	Rô
μ	Micro
$\mu\text{UI/mL}$	Microunidades por Mililitro
g/cm ²	Gramas por Centímetro Quadrado
g/cm ³	Gramas por Centímetro Cúbico
g/dL	Gramas por Decilitro
Kg	Quilogramas
Kg/m ²	Quilogramas por Metro Quadrado
M	Metro
Mg	Miligrama
mg/dL	Miligramas por decilitro
ng/mL	Nanogramas por Mililitro
pg/mL	Picogramas por Mililitro
U/L	Unidades por Litro

SUMÁRIO

1. Introdução	21
1.1 Caracterização do gene da laminina	22
1.2 Classificação das Lipodistrofias Parciais Familiares	23
1.3 Caracterização fenotípica	24
1.4 Massa óssea na LPF	24
1.5 Impacto metabólico da ausência de gordura	28
1.6 Músculo e osso	28
1.7 Tecido adiposo da medula óssea e osso	29
1.8 Adipocinas e osso	31
1.9 Diabetes e Osso	33
1.10 Obesidade e Osso	34
1.11 Lipodistrofia e Osso	35
2. Justificativa	36
3. Objetivos	37
3.1 Objetivo Geral	37
3.2 Objetivos Específicos	37
4. Material e Métodos	38
4.1 Desenho do estudo	38
4.2 Seleção dos pacientes e controles	38
4.3 Critérios de inclusão e exclusão	39
4.4 Exames bioquímicos	39
4.5 Análise molecular	40
4.6 Densitometria óssea	41
4.7 Ressonância Magnética (RM) e espectroscopia por íons ¹ H (¹ H-MRS)	42
4.7.1 Coluna lombar	42
4.7.2 Tíbia Esquerda	43
4.7.3 Músculo Sóleo	44
4.8 Osteoclastogênese	44
4.9 Análise estatística	46
5. Resultados	47
6. Discussão	75
7. Conclusão	92

8. Referências	93
9. Anexos	112
10. Apêndices	117

1. Introdução

As lipodistrofias pertencem a um grupo de doenças raras e heterogêneas, caracterizadas por um padrão anormal de distribuição de gordura corporal, com perda seletiva de tecido adiposo. Quanto à sua origem, podem ser genéticas ou adquiridas; quanto à sua distribuição, podem ser generalizadas ou parciais, com ou sem hipertrofia do tecido adiposo restante em outras regiões do corpo. As lipodistrofias genéticas são consideravelmente mais raras que as adquiridas. Nestas últimas, ao invés do componente familiar, os pacientes podem apresentar história de doenças como infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), lipodistrofia associada a transplante de medula óssea ou ao uso de medicamentos como os antirretrovirais (Garg, 2004). A lipodistrofia parcial familiar (LPF) é o foco principal deste estudo.

O fenótipo clássico da LPF é caracterizado pelo excesso de acúmulo de gordura na face, pescoço, cintura escapular, axila, região púbica e visceral, em contraste com a ausência de gordura nos membros superiores e inferiores, mamas e glúteos. Este padrão de distribuição realça a musculatura dos membros, com aparente hipertrofia muscular, visível principalmente nas panturrilhas, e flebomegalia. A atrofia gradual do tecido adiposo nas extremidades e no tronco se inicia durante a puberdade e adolescência, e acentua-se na idade adulta (Garg, 2011). É um diagnóstico mais comum em mulheres pela maior facilidade de se identificar a hipertrofia muscular, a redução do volume das mamas e o padrão androide de distribuição de gordura no sexo feminino do que no masculino. Os pacientes com lipodistrofia podem ser confundidos com síndrome de Cushing, pelo acúmulo de gordura em rosto, pescoço e a presença de giba (Resende *et al.*, 2019).

A LPF tem uma forte associação com resistência insulínica (RI), de forma que acantose nigricans, especialmente na região cervical posterior e em região de dobras, como axila e virilhas, é um achado sugestivo, em particular em pacientes não obesos. A RI também está associada à síndrome dos ovários policísticos (SOP) e hipertecose em mulheres; e à hepatomegalia culminando em doença hepática gordurosa não-alcoólica (Capeau *et al.*, 2010).

Os primeiros relatos das lipodistrofias na literatura médica datam do século passado. Foi no Brasil, em 1954, que Waldemar Berardinelli descreveu o fenótipo clássico da lipodistrofia generalizada congênita (LGC) e cinco anos mais tarde, Martin

Seip, na Noruega, descreveu outros casos (Lima *et al.*, 2016a). A LGC é caracterizada pela ausência quase completa de tecido adiposo subcutâneo desde o nascimento (Garg, 2004). Essa incapacidade de armazenamento é ocasionada por mutações em genes responsáveis pelo desenvolvimento do adipócito, como o *AGPAT2* (LGC1), *BSC12* (LGC2), *CAV1* (LGC3) e *CAVIN1* (LGC4) (Patni, Garg, 2022). O fenótipo da LGC é mais grave do que a LFP, e as complicações relacionadas à resistência insulínica e escassez de tecido adiposo são observadas desde uma idade mais precoce (Freire *et al.*, 2021).

Na década de 1970, uma nova variedade genética de lipodistrofia foi relatada por Ozer *et al.* (1973) e um ano mais tarde Dunnigan *et al.* (1974) descreveram a que viria a ser a forma mais comum de LPF, a síndrome de Dunnigan. Nos anos seguintes, Köbberling *et al.* (1975) descreveram uma síndrome lipodistrófica de extremidades associada ao diabetes. Köbberling e Dunnigan (1986) publicaram na década de 1980 sobre essa forma de lipodistrofia, a síndrome de Köbberling-Dunnigan, e sugeriram uma forma de herança dominante e ligada ao X, letal em homozigose (XY). A verdadeira forma de transmissão da doença, autossômica dominante, só foi descrita na década de 1990 em estudo que descreveu 23 membros da mesma família, em que ao menos oito apresentavam características de LPF e observaram a transmissão paterna para filho, descartando a hipótese de herança ligada ao X (Jackson *et al.*, 1997).

1.1 Caracterização do gene da Laminina

No fim da década de 90, três grupos de pesquisadores diferentes mapearam a localização do gene ligado à LPF ao cromossomo 1q21-22 (Hegele *et al.*, 2000; Peters *et al.*, 1998; Shackleton *et al.*, 2000). Dentre mais de 100 genes localizados nessa região, foi o gene da laminina A/C (*LMNA*) o escolhido como candidato provável de abrigar a mutação para LPF. As lamininas A e C são estruturas proteicas filamentosas, integrantes da membrana nuclear, responsáveis por estabilizar a lâmina do núcleo celular, através da formação de uma malha localizada na porção interna dessa membrana, que confere a firmeza mecânica necessária para organização da cromatina, regulação da transcrição e replicação do DNA (Garg, 2011). Mutações nessas proteínas prejudicam a manutenção da integridade da membrana celular e levam à morte prematura dos adipócitos.

O gene *LMNA* tem 12 éxons; a laminina A apresenta a forma completa com 12 éxons, e a laminina C, uma forma mais curta, com 10 éxons, devido a um splicing alternativo no éxon 10. As primeiras mutações associadas a LPF no gene *LMNA* foram descritas por Shackleton *et al.* (2000) e Hegele *et al.* (2000), todas ocorrendo no códon 482, por substituição de aminoácidos, notadamente arginina por glutamina, leucina ou triptofano. Essas mutações levam à troca de aminoácidos altamente conservados na espécie, e esse é um sítio recorrente de mutação (Shackleton *et al.*, 2000), afetando a ligação das lamininas ao DNA e a fatores de transcrição, e inibindo a diferenciação do adipócito (Boguslavsky; Stewart; Worman, 2006). Novas mutações no gene da laminina foram descritas posteriormente, acometendo o éxon 11, que afeta somente a laminina A, e origina uma forma de LPF mais branda ou “atípica” (Garg *et al.*, 2001; Speckman *et al.*, 2000; Vigoroux *et al.*, 2000).

É válido ressaltar que mutações no gene *LMNA* podem causar um espectro variado de doenças, denominadas laminopatias: doenças da musculatura estriada esquelética, como a distrofia muscular de Emery-Dreifuss; neuropatias periféricas, como a doença de Charcot-Marie-Tooth; e doenças de envelhecimento precoce, como a síndrome de Werner e a progeria de Hutchinson-Gilford. (Worman; Bonne, 2007).

1.2 Classificação das Lipodistrofias Parciais Familiares

As lipodistrofias parciais contam até o presente momento com 6 genes acometidos, embora em mais de 50% dos casos a mutação genética ainda permaneça desconhecida (Brown *et al.*, 2016). Esse é o caso da variante de Köbberling, que corresponde a LPF tipo 1, sem mutações genéticas identificadas, possivelmente oligo ou poligênica. Os outros genes são: *LMNA*, que causa a LPF tipo 2, já mencionada acima; receptor γ ativado pelo proliferador de peroxissomo (*PPARG*), um fator de transcrição importante na diferenciação de adipócitos, que causa a LPF tipo 3; perilipina 1 (*PLIN1*), envolvido na formação da gotícula lipídica, originando a LPF tipo 4; efector-C do fator-A de fragmento de DNA indutor de morte celular (*CIDEA*), responsável também por formar gotículas de lipídios, que causa a LPF tipo 5; gene da lipase hormônio-sensível E (*LIPE*), envolvida na regulação da lipólise, causando a LPF tipo 6; e o oncogene homólogo 2 do timoma murino (*AKT2*), responsável por decodificar uma proteína quinase envolvida na sinalização pós-receptor de insulina, descrito apenas em uma família (Giralt; Villarroya; Araújo-Vilar, 2019; Lightbourne; Brown, 2017).

Todas as formas, exceto as mutações autossômicas recessivas nos genes *CIDEC* e *LIPE*, tem padrão de herança autossômica dominante ou codominante.

1.3 Caracterização fenotípica

Compreender a base molecular da LPF é importante, porém o diagnóstico, em boa parte dos casos, advém do exame clínico, bioquímico e de imagem (Figura 1).

Os achados laboratoriais característicos da LPF partilham dos critérios para Síndrome Metabólica (SM), e incluem: alteração no metabolismo da glicose e dos lipídios, com RI, hiperglicemia e diabetes mellitus (DM), dislipidemia com padrão de elevação de triglicérides (valores acima de 500 mg/dL), redução de colesterol de alta densidade (HDLc), e aumento da circunferência abdominal (CA). A adipocina leptina costuma ter valores baixos, mas não indetectáveis na LPF (Giralt; Villarroya; Araújo-Vilar, 2019).

As anormalidades metabólicas vistas na LPF podem ser entendidas como consequência da distribuição dos estoques de gordura, já que existe uma heterogeneidade considerável no perfil metabólico e no risco cardiovascular conforme o tipo de depósito de lipídios. Agrawal et al. (2023) observaram, em uma grande coorte de pacientes, que o risco cardiovascular e o DM tipo 2 (DM2) associavam-se com a localização dos depósitos de gordura, sendo que o tecido adiposo visceral tem impacto consideravelmente maior nessas complicações do que o subcutâneo abdominal e o gluteofemoral, independente do IMC. Indivíduos com LPF seriam um exemplo extremo dessa realocação de tecido adiposo.

O padrão de redistribuição de gordura na LPF pode ser caracterizado usando a composição corporal por meio da densitometria óssea – absorciometria por dupla emissão de raios-X (DXA) e da ressonância magnética (RM) para avaliar os estoques de lipídios. A confirmação genética é de grande ajuda nos casos suspeitos de lipodistrofia, entretanto, como a base molecular por vezes não é identificada ou ainda é desconhecida, a genotipagem negativa não é imprescindível e não exclui o diagnóstico de LPF (Patni; Garg, 2022).

1.4 Massa óssea na LPF

A DXA é o exame de escolha para avaliação de massa óssea e diagnóstico de osteoporose.

Figura 1: Pacientes com LPF acompanhadas no ambulatório de Diabetes do HCFMRP-USP. (A) e (B) Paciente com mutação no gene *LMNA* códon-482 com acantose nigricans cervical e axilar, hipomastia, flebomegalia em braços, acúmulo de gordura em região visceral e púbica (sinal de Dunnigan) e panturrilhas bem delimitadas. (C) e (D) Paciente com mutação no gene *LMNA* códon-482 com flebomegalia e aparente hipertrofia muscular em membros e panturrilha. (E) e (F) Paciente com mutação no gene *LMNA* não códon-482, com acúmulo visceral de gordura e hipertrofia de panturrilhas. (G) e (H) Paciente com mutação no gene *PPARG*, com distribuição central de gordura e panturrilhas bem delimitadas



Fonte: elaborado pela autora (2023)

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define o diagnóstico de osteoporose como um T-score menor ou igual a -2,5 desvios padrão (DP) em qualquer uma das regiões de referência: coluna lombar, colo do fêmur ou quadril total em mulheres na pós menopausa ou homens acima de 50 anos. O Z-score é utilizado para mulheres antes da menopausa e homens abaixo de 50 anos; Z-score menor que -2,0 DP define

baixa massa óssea e maior ou igual a -2,0 DP, massa óssea adequada para a faixa etária (The International Society for Clinical Densitometry, 2019). A emissão de feixes de raio-X de comprimentos diferentes através do osso e partes moles (músculo e gordura) torna a DXA padrão-ouro na avaliação da composição corporal, já que ela diferencia os compartimentos livres de gordura (osso e massa muscular) do tecido adiposo.

A caracterização da massa óssea nos pacientes com LPF é escassa na literatura. A densidade mineral óssea (DMO) parece ser preservada e não são observadas lesões ósseas. Fernandez-Pombo *et al.* (2018) descreveram os achados da DMO com exame de DXA de corpo total em 82 pacientes com LPF1 e 17 pacientes com LPF2 comparados a 44 controles. A DMO não foi diferente entre os grupos para nenhum dos sítios avaliados, e também não houve diferença na comparação entre os tipos de mutação (éxon 8 versus éxons 5, 9, 11). Uma série de casos com LPF2 (61 pacientes) apresentou DMO no sítio corpo total menor que o grupo controle. Não se observou diferença na análise dos subgrupos quanto ao tipo de mutação (códon-482 versus não códon-482). Vale ressaltar que nesse estudo não foram avaliados os sítios coluna lombar, quadril e colo de fêmur (Foss-Freitas *et al.*, 2021). Em concordância com os dados anteriores, outro trabalho do mesmo grupo também relatou DMO de corpo total reduzida em 24 pacientes LPF2 comparados com 18 controles. Esses resultados contrastam com modelos animais de deleção do gene *Lmna*, que exibiram aumento de osso cortical na tíbia, com preservação do osso trabecular (Corsa *et al.*, 2021). Esses são os únicos artigos que descrevem de forma mais completa a massa óssea na LPF e por isso o presente estudo buscou caracterizar a DMO usando os sítios-padrão para diagnóstico de osteoporose, como indicado pela OMS.

Na LGC, grande parte dos estudos retrata massa óssea elevada. Na LGC 1 e 2, são observadas lesões escleróticas, que podem ser focais ou difusas, e espessamento cortical (Scheller; Rosen, 2014). O grupo com maior casuística de LGC no Brasil descreveu 21 pacientes, dos quais 57% apresentavam massa óssea elevada, apesar de pouca atividade física, menarca atrasada e ingestão de cálcio reduzida (Lima *et al.*, 2018).

Outra ferramenta disponível na DXA é o Trabecular Bone Score ou escore trabecular ósseo (TBS), uma medida de textura obtida por variações de pixels em um gradiente de cinza, que avalia a qualidade óssea (Silva *et al.*, 2014). Quando “baixo”

sugere microarquitetura óssea degradada, prediz fraturas osteoporóticas e é fator de risco independente de fraturas (Silva; Bileziakian, 2014). Doenças como diabetes, hiperparatireoidismo primário e artrite reumatoide podem se associar a TBS reduzido e à alteração da microarquitetura óssea (Palomo *et al.*, 2022). Não existem dados na literatura sobre TBS na LPF.

A LPF é um modelo natural em que podemos observar as consequências que a síndrome metabólica (SM), a RI e o DM exercem sobre o tecido ósseo em paciente expostos a essa condição desde o início da idade adulta, quando o pico de massa óssea ainda não foi atingido. Esse aspecto dos pacientes com LPF foi pouco avaliado na literatura, em contraste com as complicações metabólicas, e por isso o interesse em compreendê-lo melhor. O remodelamento ósseo é um processo fisiológico complexo, resultante da integração de células ósseas e influenciado por estímulos hormonais, como paratormônio (PTH), estrógenos, 25(OH) vitamina-D – 25(OH)D, e mecânicos, entre outros. Desequilíbrios podem gerar perda de massa óssea, como no envelhecimento, nas doenças metabólicas e em condições associadas a RI (Batista *et al.*, 2019).

O esqueleto está em constante renovação por meio do remodelamento, em que o osso danificado ou velho é substituído por tecido novo. Esse processo consiste numa fase inicial de reabsorção seguida por formação óssea. O remodelamento é essencial para a saúde óssea, e depende da integração das células ósseas, efetuado pelo conjunto osteoblasto-osteoclasto e orquestrado por osteócitos (Bolamperti; Villa; Rubinacci, 2022). Osteoblastos são responsáveis pela formação óssea. Derivam de células mesenquimais da medula óssea, que também podem originar adipócitos, enquanto osteoclastos são células multinucleadas, derivadas da linhagem hematopoiética de monócitos e macrófagos e responsáveis pela reabsorção óssea (Melmed *et al.*, 2019). O processo de remodelação é em grande parte regulado pelos osteócitos, mas é necessário reconhecer que existe interação direta entre osteoblastos e osteoclastos. Os osteócitos representam mais de 90% das células do esqueleto adulto, originam-se de osteoblastos que foram incorporados à matriz óssea e são considerados os sensores bioquímicos e mecânicos do esqueleto (Plotkin; Bellido, 2016). Não há relatos sobre a atividade de remodelação óssea na LPF.

1.5 Impacto metabólico da ausência de gordura

A obesidade, doença metabólica mais frequente do ser humano, se associa a um conjunto de sinais e sintomas que conferem alto risco cardiovascular e caracterizam a SM. Paradoxalmente, as lipodistrofias, reconhecidas pela escassez de tecido adiposo, aceleram igualmente o surgimento destas alterações. (Gorden *et al.*, 2010). Portanto, a escassez de tecido adiposo, o sítio mais apropriado para armazenamento de lipídios, pode ser tão ou mais deletéria para a saúde que o excesso de tecido adiposo.

As manifestações de doenças metabólicas graves, incluindo RI, DM, doença hepática gordurosa metabólica (DHGM) e hipertrigliceridemia são mais precoces na obesidade (Kawai *et al.*, 2012). Do ponto de vista epidemiológico, o excesso de gordura presente na obesidade, tem correlação positiva com a RI e a SM. No entanto, a nível individual, observamos uma variabilidade grande entre indivíduos que se encontram em sobrepeso/obesidade, mas que não compartilham a mesma tendência para complicações metabólicas (Virtue; Vidal-Puig, 2008).

Estas observações destacam aspectos essenciais do tecido adiposo e sua relação com saúde e doença: a) a obesidade reflete a grande capacidade do tecido adiposo de armazenar lipídios, sendo o principal sítio de acúmulo de energia; b) esta capacidade não é ilimitada, ocorrendo deposição ectópica de gordura na medida em que o tecido adiposo exaure seu potencial de armazenamento; nas lipodistrofias esta capacidade é naturalmente menor; c) alguns locais de armazenamento, como o tecido adiposo subcutâneo (TASC) gluteofemoral, são mais sensíveis à insulina, sendo o sítio ideal de estoque de lipídios, e sua expansão não tem o mesmo impacto metabólico negativo que o TASC abdominal ou visceral; d) o perfil de secreção endócrina do adipócito varia, adquirindo padrão mais inflamatório com o aumento dos estoques de gordura; e) a escassez de tecido adiposo, observada nas lipodistrofias, possivelmente precipita de forma precoce os efeitos adversos da deposição ectópica de lipídios e da manutenção de taxas elevadas de ácidos graxos livres na circulação (Mann; Savage, 2019).

1.6 Músculo e osso

A deposição ectópica de gordura pode ocorrer em diversos tecidos, como fígado, pâncreas, músculo, entre outros. O acúmulo de lipídios no tecido muscular

ganhou cada vez mais interesse do ponto de vista metabólico, pois o músculo é um dos grandes sítios de utilização periférica de glicose e, em estados de resistência insulínica, a captação de glicose está reduzida na musculatura periférica (DeFronzo, 2009). A causa dessa RI está ligada ao acúmulo de gordura muscular, que pode se localizar fora do miócito, em camadas ao longo da fibra muscular (gordura extramiocelular, EMCL); ou em gotículas no citoplasma dos miócitos, chamada gordura intramiocelular (IMCL) (Machann *et al.*, 2004).

IMCL tem associação positiva com a resistência muscular à insulina, independentemente da gordura corporal total ou da presença de diabetes (DeFronzo, 2009). Poucos estudos quantificaram IMCL e EMCL em pacientes com LPF; Savage *et al.* (2019) encontraram concentrações elevadas de IMCL em pacientes com lipodistrofia quando comparados a atletas, mas não a controles, e o uso de metreleptina mostrou efeito positivo na redução de IMCL e melhora da RI em uma coorte pequena de 12 paciente com LPF (Brown, 2018). A quantificação de IMCL, EMCL e sua relação com parâmetros ósseos na LPF é desconhecida e foi alvo deste estudo.

A ressonância magnética permite uma avaliação quantitativa e qualitativa dos lipídios teciduais. Usando a espectroscopia por íons hidrogênio é possível quantificar de forma não invasiva o tecido adiposo de medula óssea (TAMO), com boa reprodutibilidade em relação a métodos invasivos, como a biópsia óssea (Li *et al.*, 2011) e também a quantificação de IMCL e EMCL. A avaliação da adiposidade nesses sítios baseia-se nas diferenças entre o número de ligações de hidrogênio presentes em moléculas teciduais. Desta forma, é possível discriminar diferentes picos representativos das quantidades de água, lipídios saturados, lipídios insaturados (Patsch *et al.*, 2013a) e lipídios musculares. Esta técnica é considerada padrão ouro para determinar a adiposidade tecidual não invasiva in vivo (Maciel *et al.*, 2017).

1.7 Tecido adiposo da medula óssea e osso

A condição das lipodistrofias representa um campo fértil de pesquisa pois permite avaliar o impacto da redistribuição de gordura e da resistência insulínica precoce sobre os mais diversos tecidos, como o osso. O preenchimento da medula óssea por tecido adiposo é um processo natural, que se inicia logo após o nascimento, em ossos das extremidades (de Paula; Rosen, 2018). A expansão do TAMO ocorre de maneira gradual e irregular ao longo do envelhecimento, e por volta da 4ª década

de vida, grande parte das cavidades dos ossos apendiculares já sofreu lipossustituição. Recentemente, foi sugerido existir diversidade funcional do TAMO de acordo com sua localização, com a identificação de dois tipos: o constitutivo e o regulado. O primeiro é encontrado nas porções mais distais dos ossos longos, surge mais cedo no desenvolvimento, é histologicamente formado por adipócitos confluentes, que se assemelham ao tecido adiposo branco periférico, e mais rico em lipídios insaturados. O segundo se desenvolve ao longo da vida e é caracterizado por células intercaladas com áreas ativas de hematopoiese, e possui maior concentração de lipídios saturados. O TAMO regulado é responsivo a estímulos fisiológicos, como térmico e nutricional (Scheller; Rosen, 2014).

Existe consenso na literatura que o aumento do TAMO se associa negativamente com a massa óssea (Griffith *et al.*, 2005; Justesen, *et al.*, 2001). Além disso, algumas doenças, como o DM, parecem afetar a composição dessa adiposidade de medula, favorecendo o aumento da fração saturada em detrimento da insaturada, padrão encontrado também em pacientes com osteoporose que apresentavam fraturas por fragilidade (Patsch *et al.*, 2013a). A caracterização do TAMO na LPF é escassa, e foi um dos objetivos deste trabalho. Garg, Peshock e Fleckenstein (1999) descreveram TAMO de tíbia preservado em relação a controles em 4 pacientes com LPF. Modelos animais que simulam a deleção do gene *Lmna* apresentam redução de TAMO regulado e constitutivo na tíbia e vértebra caudal de camundongos, associado a aumento do osso cortical (Corsa *et al.*, 2021).

Por isso, existe grande interesse em se determinar a participação do TAMO como regulador da remodelação óssea, já que tem uma localização única, onde osso e gordura se relacionam. A conexão entre os dois tecidos é ainda mais íntima, pois adipócitos e osteoblastos compartilham uma célula progenitora comum, a célula tronco mesenquimal da medula óssea (CTMO), que em determinadas condições pode se diferenciar em uma linhagem às custas da outra (de Paula; Rosen, 2018). Menopausa, osteoporose, anorexia nervosa, imobilização prolongada ou uso de medicações como glicocorticoides e tiazolidinedionas (TZD) estão associadas a aumento do TAMO e perda de massa óssea (Kawai; de Paula; Rosen, 2012). Muitos estudos tem buscado compreender quais situações favorecem o aumento de expressão de fatores de transcrição ligados à osteoblastogênese, levando a ganho de massa óssea, e quais deslocam a CTMO para formação de adipócitos, como o PPAR γ (Li; Schwartz, 2020).

O PPAR γ é considerado um regulador chave na adipogênese e no metabolismo da glicose. As TZD são uma classe de medicações que atuam como agonistas externos do receptor do PPAR γ , usadas no tratamento do diabetes como sensibilizadores da ação da insulina. Esse papel ocorre principalmente por essas medicações estimularem a redistribuição dos estoques de tecido adiposo visceral para o compartimento subcutâneo, menos associado às complicações metabólicas. O estímulo ao PPAR γ pelas TZD também aumenta o número de pequenos adipócitos, mais sensíveis à ação da insulina, melhorando o perfil lipídico do paciente, reduzindo a circulação de ácidos graxos livres e aumentando a oxidação de gorduras no fígado (Kawai; Rosen, 2010).

O uso dessas medicações, em especial nas mulheres pós-menopausa, levou a perda de massa óssea e aumento do risco de fraturas (Hidayat *et al.*, 2019; Zhu; Jiang; Ding, 2014). Como a CTMO expressa PPAR γ , o estímulo ao seu receptor no TAMO poderia priorizar a diferenciação de adipócitos em detrimento de osteoblastos, justificando a perda de massa óssea. Em modelos experimentais que criam de maneira artificial ambientes de ativação ou inibição do PPAR γ , observou-se uma relação de alto TAMO/baixa massa óssea quando estimulado o PPAR γ e baixo TAMO/alta massa óssea quando inibido. (Akune *et al.*, 2004; Wan; Chong; Evans, 2007), sendo esse último o fenótipo encontrado em pacientes LPF3, que apresentam mutação no gene *PPARG*.

1.8 Adipocinas e osso

A relação entre tecido adiposo branco (TAB) e TAMO precisa ser melhor esclarecida. Em diversas situações, o TAMO tem resposta adaptativa diferente do TAB. O TAB é reconhecido pelo seu papel como órgão endócrino e sua influência sistêmica, via secreção de hormônios denominados adipocinas. A leptina é um hormônio peptídico produzido por adipócitos, que sinaliza saciedade no sistema nervoso central (SNC) e atua no controle do metabolismo energético. Seus valores na circulação refletem a quantidade de gordura e os estoques de energia, de forma que se encontra elevada em estados de obesidade e reduzida em estados de restrição calórica (Zhang *et al.*, 1994).

Nos pacientes com lipodistrofias, a redução do tecido adiposo resulta em redução da leptina. A hipoleptinemia é interpretada pelo SNC como sinal de fome, levando à hiperfagia. Como esses pacientes não conseguem armazenar o excesso

de calorias sob a forma de gordura, ocorre a deposição ectópica que resulta no quadro metabólico característico da doença. Os valores dessa adipocina são baixos ou indetectáveis nos tipos generalizados em comparação com os parciais, porém todas as formas parecem ter resposta de melhora metabólica com reposição de leptina (Chong *et al.*, 2010).

O papel exato da leptina sobre o esqueleto é controverso, com estudos mostrando tanto ganho quanto perda de massa óssea. Ela pode ativar o sistema nervoso simpático, resultando em redução da massa óssea por estímulo de osteoclastogênese via ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa β (RANKL); e promover ganho de massa óssea, desviando as CTMO para diferenciação em osteoblastos ao invés de adipócitos (Kawai; de Paula; Rosen, 2012).

A quemerina, outra adipocina, é uma proteína de sinalização envolvida na diferenciação de adipócitos, inflamação e metabolismo energético. Está presente no TAB e o seu receptor principal é expresso em pré-adipócitos, células do sistema imunológico e CTMO (Bozaoglu *et al.*, 2007, Goralski *et al.*, 2007, Muruganandan *et al.*, 2011). Estudos em humanos observaram uma correlação positiva entre os valores de quemerina e obesidade, IMC e tecido adiposo visceral (Bozaoglu *et al.*, 2007; Chakaroun *et al.*, 2012; Landgraf *et al.*, 2012). Além do seu papel na adipogênese, a quemerina também parece influenciar o metabolismo da glicose, já que dados clínicos sugerem aumento de valores circulantes em pacientes com obesidade, DM e doenças cardiovasculares (Perumalsamy *et al.*, 2017).

Estudos conduzidos por Muruganandan *et al.* (2011, 2017) descreveram as ações da quemerina no tecido ósseo. Ela atua na CTMO, inibindo a diferenciação em osteoblastos e favorecendo a adipogênese, bem como ajudando na diferenciação de osteoclastos, promovendo reabsorção óssea. O papel da quemerina foi investigado em estados pró-inflamatórios que induzem ativação de osteoclastos e podem levar a maior reabsorção óssea (Ramos-Junior *et al.*, 2016). Em modelos murinos com dislipidemia e obesidade, os valores de quemerina estavam elevados, e o uso de antagonista de receptor da quemerina reduziu a secreção de catepsina K, uma protease secretada pelo osteoclasto, reduzindo a perda de osso alveolar nesses animais (Muruganandan *et al.*, 2013). Este estudo buscou avaliar o impacto da inflamação no remodelamento ósseo por meio da cultura e diferenciação de osteoclastos com RANKL e quemerina.

1.9 Diabetes e Osso

A relação entre DM, RI, obesidade, TAB e massa óssea é cada vez melhor caracterizada, em especial pelo aumento das pesquisas nos últimos anos. Músculos e tecido adiposo conhecidamente participam do metabolismo da glicose, e recentemente vários peptídeos produzidos pelas células ósseas foram reconhecidos por seus efeitos no metabolismo da glicose e dos lipídios.

Tanto o DM tipo 1 (DM1) quanto o DM tipo 2 (DM2) estão associados com aumento do risco de fratura, porém a DMO costuma ser preservada ou até mesmo aumentada nos pacientes com DM2, o que sugere que a perda de massa óssea não é o principal determinante do risco aumentado de fratura nos pacientes com resistência insulínica, mas sim parâmetros de microarquitetura óssea, remodelamento ósseo e mineralização (de Araújo *et al.*, 2017; de Araujo; Moreira; de Paula, 2022).

A insulina tem papel na formação e reabsorção ósseas, já que osteoblastos e osteoclastos apresentam receptores de insulina (Fulzele *et al.*, 2010). Modelos *in vitro* mostram que concentrações fisiológicas de insulina aumentam a proliferação de osteoblastos e inibem a atividade osteoclástica (Thraillkill *et al.*, 2005). Parâmetros de resistência insulínica, como o Homeostase Model Assessment – Insulin Resistance (HOMA-IR), também não mostram relação negativa com a massa óssea e o TAMO (de Araujo *et al.*, 2020), e em alguns estudos o HOMA-IR se associou positivamente com a densidade mineral óssea volumétrica na HR-pQCT (Shanbhogue *et al.*, 2016) reforçando a observação de que a RI não tem efeito negativo sobre a DMO.

Já o TBS é descrito nos estudos como diminuído nos pacientes com diabetes. Além do TBS ser reduzido em homens e mulheres com diabetes quando comparado aos controles, o escore teve associação negativa com hemoglobina glicada, glicemia de jejum, insulina e HOMA-IR (Kim *et al.*, 2015) e foi considerado um fator de risco independente para fraturas nos pacientes com diabetes (Leslie *et al.*, 2013).

Da mesma forma, o osso exerce influência sobre o metabolismo da glicose no papel da osteocalcina, uma proteína produzida por osteoblastos. Ela é considerada um marcador de formação óssea, e na sua forma ativa, ou descarboxilada, aumenta a proliferação de células β pancreáticas e estimula a expressão de insulina e de adiponectina em adipócitos (Sabek *et al.*, 2015). Em camundongos, a administração diária de osteocalcina melhorou a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina tanto

em dietas normais quanto ricas em gordura (Ferron *et al.*, 2012). Em humanos, estudos prévios descreveram que pacientes com diabetes tinham osteocalcina reduzida em comparação aos controles e relação negativa com glicose, insulina e HOMA-IR (Liang *et al.*, 2016). Outro trabalho reforçou o achado de valores reduzidos de osteocalcina em pacientes com diabetes e mostrou que a osteocalcina teve associação negativa com a densidade mineral óssea em todos os sítios (de Araujo *et al.*, 2017). A relação da massa óssea e marcadores de remodelamento foi alvo desse estudo, em que avaliamos uma condição onde a resistência insulínica e o diabetes mellitus se instalam precocemente.

1.10 Obesidade e Osso

Os efeitos da obesidade sobre o esqueleto também têm sido revistos. Acreditava-se que o excesso de peso fosse um fator protetor da massa óssea. Essa premissa vem do fato de que o IMC se associa a aumento de massa óssea. Inclusive existem estudos que chamam atenção para a associação entre o IMC elevado e a redução do risco de fratura em calculadoras de risco como o Fracture Risk Assessment (FRAX) (Compston *et al.*, 2011). Há de se ressaltar que a incidência de fratura de quadril é menor em indivíduos obesos (Zhao *et al.*, 2007a), mas a incidência de fraturas em outros sítios (p.ex., tornozelo e tibia) é elevada.

O mecanismo por trás da massa óssea aumentada seria, pelo menos em parte, devido ao excesso de carga a que está submetido o esqueleto das pessoas com obesidade (Evans *et al.*, 2015). Esse efeito na massa óssea, porém não é único e se deve também a ação endócrina de adipocinas. Outros fatores presentes na obesidade, por exemplo, o aumento do risco de quedas, as citocinas produzidas em excesso pelo TAB, a deficiência de vitamina D e o ambiente pró-inflamatório, bem como o perfil hormonal, tornam o argumento de excesso de carga muito simplista para explicar todos os efeitos que a obesidade exerce sobre o tecido ósseo (Gkastaris *et al.*, 2020).

A hiperleptinemia decorrente do excesso de TAB na obesidade poderia exercer alguma influência na DMO. Como descrito, a leptina tem uma ação controversa no osso, e o paciente obeso tem um quadro de resistência à ação da leptina. O estado pró-inflamatório presente na obesidade é um fator conhecidamente relacionado à perda de massa óssea, já que citocinas como o fator de necrose tumoral alfa e a interleucina 6 induzem maior absorção óssea por estimularem a secreção de RANKL

pelos osteoblastos, e inibirem a osteoprotegerina, contrarreguladora do RANKL, favorecendo a osteoclastogênese e a reabsorção óssea (Wei *et al.*, 2005).

A deficiência de vitamina D também é mais prevalente em indivíduos obesos, e pode levar a menor absorção de cálcio e fósforo intestinais e hiperparatireoidismo secundário, muito embora pacientes obesos possuam o córtex mais denso que controles normais. Uma explicação é que esses pacientes apresentem redução dos níveis circulantes de vitamina D, que por ser lipossolúvel, estaria armazenada no tecido adiposo aumentado nesse contexto, mas não haveria um comprometimento dos estoques corporais (Walsh *et al.*, 2016). O “paradoxo da obesidade” na massa óssea é, portanto, bastante complexo e sugere que embora a DMO seja preservada, os efeitos na microarquitetura óssea são deletérios e ainda precisam ser melhor caracterizados.

1.11 Lipodistrofia e Osso

A massa óssea final do indivíduo é regulada por fatores genéticos e ambientais. Inflamação, quantidade, localização e tipo de tecido adiposo, presença de DM, síndrome metabólica, obesidade e tipo de lipodistrofia são aspectos que podem afetar direta ou indiretamente a densidade mineral óssea. Seria intuitivo pensar que os indivíduos com LPF, por exibirem doenças crônicas iniciadas em idade jovem, apresentassem um maior comprometimento ósseo. Entretanto, a massa óssea, ao contrário de outros tecidos, parece não ter relação negativa com a hiperinsulinemia. Assim, em diversas situações fortemente associadas à RI, a massa óssea é normal ou aumentada, e a qualidade óssea é comprometida. Ainda está por ser elucidado o mecanismo de prejuízo de qualidade óssea nesse contexto metabólico.

Existe uma lacuna no conhecimento em relação à caracterização da DMO em pacientes com LPF usando os sítios habituais de avaliação, e não somente o corpo total. Além disso, a interação entre tecido adiposo e osso possui muitos pontos a serem elucidados, já que as adipocinas exercem efeitos na regulação óssea que por vezes são controversos. Existe escassez de dados na literatura sobre a influência da redistribuição de gordura, em situações de resistência insulínica grave, sobre a manutenção da massa óssea.

2. Justificativa

Existe ampla interação entre os tecidos ósseo e os mesenquimais não mineralizados e é possível que, dependendo da sua localização e distribuição, o tecido adiposo possa ter influência negativa ou positiva sobre a quantidade e a qualidade óssea. Situações em que ocorrem alterações quantitativas do tecido adiposo são uma oportunidade para se avançar no conhecimento do papel dos tecidos mesenquimais sobre a saúde óssea. A redistribuição de lipídios em particular em músculos e medula óssea ainda está por ser melhor estimada em indivíduos com LPF. Este modelo clínico pode permitir a obtenção de novos dados sobre a influência do tecido adiposo e da resistência insulínica sobre a massa óssea.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Caracterizar a densidade mineral óssea (DMO) de pacientes com lipodistrofia parcial familiar (LPF) nos sítios-padrão definidos pela OMS e sua relação com a distribuição corporal de gordura, em especial o tecido adiposo de medula óssea (TAMO) e os lipídios musculares (IMCL e EMCL).

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o perfil bioquímico dos pacientes com LPF e se a presença de resistência insulínica de início precoce nesse grupo tem associação com a massa óssea e a microarquitetura trabecular.
- Avançar na caracterização de distribuição de tecido adiposo nas lipodistrofias por meio da avaliação de sítios específicos: TAMO e suas frações, e lipídios musculares (IMCL e EMCL).
- Investigar se monócitos de indivíduos com LPF apresentam maior capacidade de diferenciação em osteoclastos do que monócitos de indivíduos controle e o impacto da osteoclastogênese *in vitro* na DMO.

4. Material e Métodos

4.1 Desenho do estudo

Estudo observacional transversal, que comparou um grupo de expostos, composto por pacientes com LPF, a um grupo controle de não-expostos saudáveis, pareados quanto a sexo, idade e peso.

4.2 Seleção dos pacientes e controles

Esse estudo incluiu na análise final 23 indivíduos no grupo controle (C: 18 mulheres e 5 homens) e 20 pacientes no grupo lipodistrofia parcial familiar (LPF: 16 mulheres e 4 homens), sendo 18 pacientes classificados como LPF tipo 2 (LPF2) e 2 pacientes como LPF tipo 3 (LPF3). Os dois grupos foram pareados por idade, sexo e peso.

Os pacientes com diagnóstico de LPF fazem seguimento clínico no Ambulatório de Diabetes da Divisão de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da FMRP-USP (HC-FMRP-USP), um serviço de atenção terciária de alta complexidade. Atualmente, o serviço atende 69 pacientes com diagnóstico de LPF. Os pacientes com LPF atendidos no HC-FMRP-USP preenchem um ou mais dos seguintes critérios: (1) síndrome metabólica de início precoce, conforme a definição do National Cholesterol Education Program (NCEP-ATP III), com a presença de 3 de 5 critérios (Glicemia de Jejum ≥ 100 ou DM2; HDLc < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres; triglicérides > 150 mg/dL; circunferência abdominal ≥ 102 cm para homens ou ≥ 88 cm para mulheres; pressão arterial $\geq 130/85$ mmHg ou tratamento para HAS (Alberti *et al.*, 2009); (2) sinais de resistência insulínica (acantose nigricans, pré-diabetes ou DM) ou DHGM em pacientes sem obesidade; (3) avaliação antropométrica (índice de Köb $> 3,477$; redução de pregas cutâneas – subescapular, coxa e panturrilha) (Guillín-Amarelle *et al.*, 2016); (4) familiar já em seguimento no serviço ou (5) confirmação molecular.

O grupo controle foi selecionado a partir de divulgação da pesquisa clínica por meio da assessoria de comunicação do HC-FMRP-USP. Os indivíduos que responderam, aceitaram e apresentavam as condições para participação foram incluídos. Todos os pacientes foram adequadamente informados dos objetivos do estudo e riscos envolvidos com os procedimentos. O estudo foi conduzido conforme a Declaração de Helsinki e aprovado pelo comitê de ética do HC-FMRP-USP (CAAE

nº 12352/2018) (Anexo A). Todos os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B).

4.3 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão do grupo controle foram: indivíduos saudáveis entre 18 e 60 anos. Os critérios de inclusão do grupo LPF foram: indivíduos com diagnóstico clínico/bioquímico ou molecular de lipodistrofia, entre 18 e 60 anos. Foram excluídos do grupo controle e LPF os indivíduos com: doenças osteometabólicas ou com impacto direto no metabolismo ósseo, doença renal ou hepática grave e uso de medicações que interferem no metabolismo ósseo, como glicocorticoides, antiepilépticos e drogas utilizadas no tratamento de osteoporose (bisfosfonatos, denosumabe, teriparatida, calcitonina).

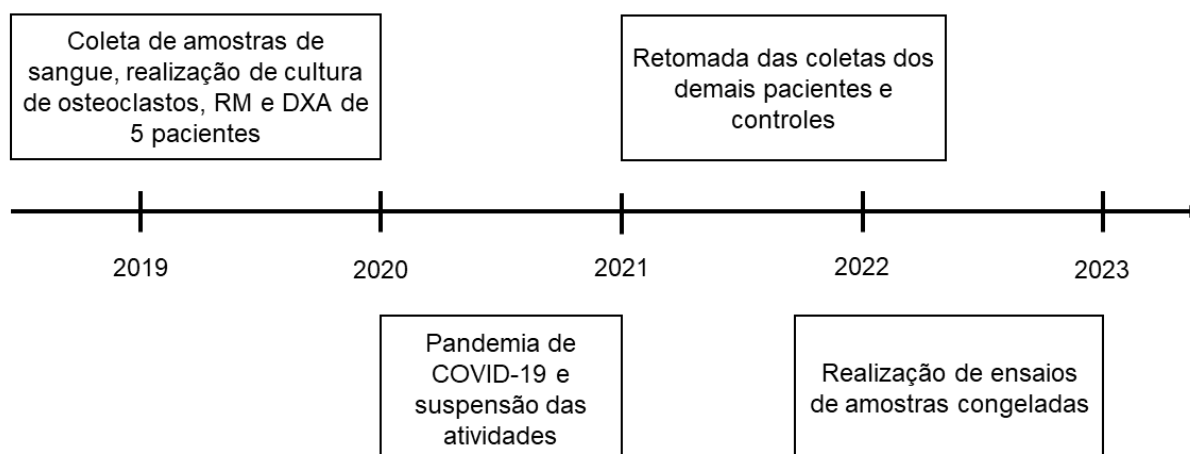
4.4 Exames bioquímicos

Amostras de 50ml de sangue foram coletadas após jejum de 12 horas. Todos os 23 controles e 20 pacientes realizaram as coletas. Os exames foram realizados no Laboratório Central do HCFMRP-USP. As dosagens de glicose em jejum, hemoglobina glicada (HbA1c), colesterol total e frações (HDLc, LDLc), triglicérides, cálcio, fósforo, albumina, fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase (AST/TGO), alanina aminotransferase (ALT/TGP), ureia e creatinina foram realizados no dia da coleta. Alíquotas de soro dos demais parâmetros foram armazenadas a -70°C até o dia de realização dos demais ensaios. O fluxograma das coletas e realização de exames é descrito na Figura 2.

As dosagens de glicose em jejum, cálcio, fósforo, albumina, fosfatase alcalina, TGO e TGP foram determinadas em analisador bioquímico automático (Wiener lab, CT 600i, Thermo Fisher Scientific, Espoo, Finlândia). HbA1c e insulina basal foram medidas por ensaio imunoenzimático (Atellica ®CH, Siemens Heathineers, Erlangen, Alemanha). PTH, 25(OH) vitamina-D e osteocalcina (Liaison, Diasorin, Saluggia, Itália) foram analisadas por quimioluminescência. Leptina e quemerina foram realizadas por ensaio ELISA (Biovendor, R&D, Karásek, República Checa). Os níveis de insulina e o cálculo do HOMA-IR foram avaliados em 23 controles e 13 pacientes, pois os indivíduos LPF com DM tipo 2 em uso de terapia com insulina foram excluídos dessa avaliação. A resistência insulínica foi calculada pelo índice HOMA-IR: [glicose de jejum

(mg/dL) x 0,0555 x insulina em jejum ($\mu\text{UI/mL}$)/22,5], com valor de referência menor que 2,71 (Geloneze *et al.*, 2009).

Figura 2: Linha do tempo da coleta e realização de exames de sangue e culturas de osteoclastos com sangue fresco, ressonância magnética, densitometria óssea e posterior ensaio de amostras congeladas.



4.5 Análise molecular

Dos 20 pacientes incluídos, 6 já possuíam análise molecular realizada anteriormente. Essa análise prévia foi feita por meio de sequenciamento direto de DNA genômico extraído de sangue periférico, com o kit QIAmp DNA Blood (Qiagen, Valencia City, CA, USA), conforme as instruções do fabricante. Os exons 2,7,8-9 e 11 do gene *LMNA*, foram amplificados por reações de DNA Polimerase em Cadeia (PCR). Posteriormente, o material foi sequenciado usando a técnica-padrão Sanger e o kit comercial (ABI Prism® Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit; Applied Biosystems, Life Technologies). Os seguintes primers foram usados para amplificar os éxons 8 e 9: primer senso 5',TAAGCTTGGCACGGCTGTCCAAGGA,3' e primer antissenso 5',ACAGAATTCGCCCGGCCTGGTACAC,3'; e éxon 11: primer senso 5',GTAGCTAGAACAGAGTCAGAGTC,3' e primer antissenso 5',AGAGAGAAAACAGAGGAGAGAGG,3'. As sequências obtidas foram comparadas à sequência referência do gene *LMNA* (GenBankNG_008692.2) usando o CodonCode Aligner Program V4.0.4 (CodonCode Co.).

Nos demais pacientes, foram extraídas amostras de DNA de swabs bucais usando os procedimentos padrão para coleta. Os materiais foram encaminhados para análise no laboratório Mendelics, conforme instruções. As regiões alvo foram

capturadas com uso de sondas. Foi realizada análise molecular por sequenciamento de nova geração, com tecnologia Illumina, para investigar a presença de variantes potencialmente patogênicas presentes em um painel de genes de interesse, incluindo *LMNA*, *PPARG*, *LIPE*, *PLIN1* e *CIDECA*, entre outros. A identificação das variantes patológicas utilizou protocolos de bioinformática, tendo como referência a versão GRCh38 do genoma humano e foi processada pelo programa ExomeDepth, (<https://cran.rproject.org/web/packages/ExomeDepth/index.html>, acessado em 4 de maio de 2021), voltado para a identificação de variações de número de cópias (CNVs). A base de dados de agregação de genoma (gnomAD) foi utilizada para referência de frequência alélica das variantes. Todas as análises foram feitas com base nas informações providas pela equipe médica.

4.6 Densitometria óssea

A densidade mineral óssea (DMO) da coluna lombar (L1-L4), quadril total (QT), colo femoral (CF) e 1/3 proximal do rádio (rádio 33%) foi determinada por absorciometria por dupla emissão de raio X (DXA) em 23 controles e 20 pacientes. (GE Healthcare, Lunar Prodigy Advance, Pittsburgh, PA, EUA). Os valores de DMO são expressos em g/cm² e Z-score, já que a maioria dos indivíduos são mulheres em idade fértil e homens jovens com menos de 50 anos. A mínima variação significativa (MVS) para os sítios analisados foi de: 0,038 g/cm² para L1-L4, 0,028 g/cm² para QT, 0,052 g/cm² para CF e 0,033 g/cm² para rádio 33%.

A avaliação das medidas de composição corporal foi obtida pela análise de corpo total (CT). Foram determinadas a gordura corporal total (Kg) e percentual (%), o percentual de gordura em membros inferiores; o índice de massa gorda (IMG ou Fat Mass Index – FMI, em Kg/m²); o tecido adiposo visceral (TAV, em g/cm³) abdominal estimado; e a relação androide/ginoide (A/G). A avaliação da massa magra incluiu: o índice de Baumgartner (divisão da massa magra apendicular pela altura ao quadrado, em Kg/m²); e o índice da Fundação para os Institutos Nacionais de Saúde – FNIH (razão da massa magra apendicular pelo índice de massa corporal – IMC) (Studenski *et al.*, 2014). Como ferramenta de auxílio no diagnóstico de pacientes com lipodistrofia, foi usado o fat mass ratio (FMR), razão do percentual de gordura em tronco sobre o percentual de gordura em membros inferiores, com valor de 1,2 tanto para homens quanto para mulheres, proposto inicialmente por Bonnet *et al* (2005) em

pacientes com lipodistrofia associada ao HIV, e posteriormente em pacientes com LPF2 (Valerio *et al.*, 2007, 2012)

A análise das sombras de gordura, ou fat shadows, foi obtida diretamente do software enCORE, manufaturado pela GE Lunar para o aparelho Prodigy. Nas opções de visualização, todos os tecidos, exceto o adiposo, foram escurecidos, e a gordura foi destacada em amarelo (Meral *et al.*, 2018). O escore trabecular ósseo (TBS) de L1-L4 para avaliação de microarquitetura óssea foi estimado por meio do software Insight versão 3.0 (Medimaps, Genebra, Suíça).

4.7 Ressonância Magnética (RM) e espectroscopia por íons ^1H (^1H -MRS)

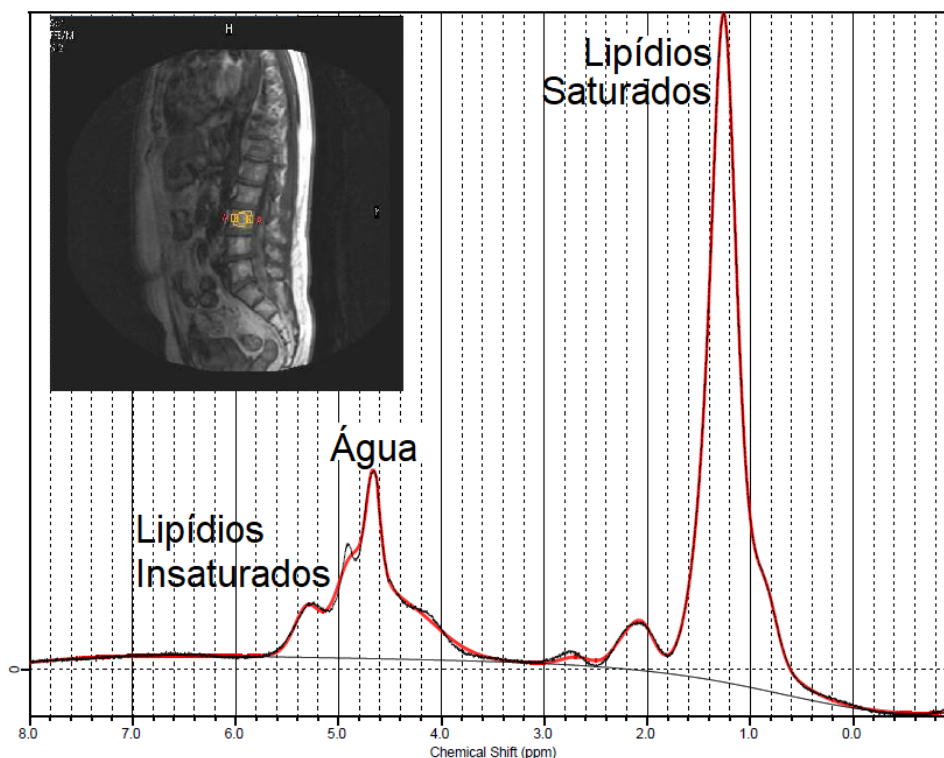
Devido à claustrofobia, 5 controles e 6 pacientes não realizaram a RM de coluna lombar. No total, 20 controles e 16 pacientes fizeram a RM de tíbia e músculo sóleo. O protocolo realizado no HC-FMRP-USP para avaliação *in vivo* do TAMO por meio da ^1H -MRS segue as diretrizes publicadas pelo Grupo de Pesquisa da Sociedade Internacional de Adiposidade de Medula Óssea (Tratwal *et al.*, 2020)

4.7.1 Coluna lombar

Controles e pacientes realizaram RM de 3,0 Tesla (Philips Medical System, Achieva), usando uma bobina *phased array* específica para região lombar. Para a espectroscopia da coluna lombar, foram obtidas imagens ponderadas em T2 e adquiridas em orientação sagital conforme os seguintes parâmetros: tempo de eco – TE = 120 ms; espaçamento entre fatias (gap)=4.4mm; echo-train-length=19; repetition time – TR=3900 ms; espessura do corte=4mm, flip angle=45°. Esta sequência *fast spin echo* foi usada para posicionar um voxel cúbico de 20 x 20 x 20 mm no centro do corpo vertebral de L3. A ^1H -MRS foi realizada por meio da técnica Point Resolved Spectroscopy (PRESS), com os seguintes parâmetros: 16 aquisições, supressão de sinal da água e flip angle de 90°, tempo de repetição (TR)=1600 ms, TE's=30/45/60/75/90 ms. Os dados obtidos foram processados no software LC model (versão 6.1, <http://www.s-provencher.com/pages/lcmodel.shtml>, acessado em 25 de setembro de 2021) e os valores obtidos foram usados para calcular as frações de gordura (lipídios saturados e insaturados). O conteúdo do TAMO e da sua fração saturada em L3 foram calculados conforme a seguinte equação: TAMO total (%) = $[(\text{LS} + \text{LI} + \text{LR}) / (\text{LS} + \text{LI} + \text{LR} + \text{água})] \times 100\%$. Lipídios saturados (LS) e insaturados (LI) foram calculados como frações percentuais do total de intensidade de sinal (IS),

de acordo com a seguinte equação: $LS (\%) = [(LS) / (LS + LI + LR + \text{água})] \times 100\%$ e $LI (\%) = [(LI) / (LS + LI + LR + \text{água})] \times 100\%$ (Figura 3).

Figura 3: Espectro obtido por meio de exame de ressonância magnética de hidrogênio, processada no software LCModel. As áreas sob a curva correspondem à quantidade de água e gordura na vértebra. A imagem da coluna mostra o voxel posicionado em L3.



Fonte: elaborado pela autora (2023)

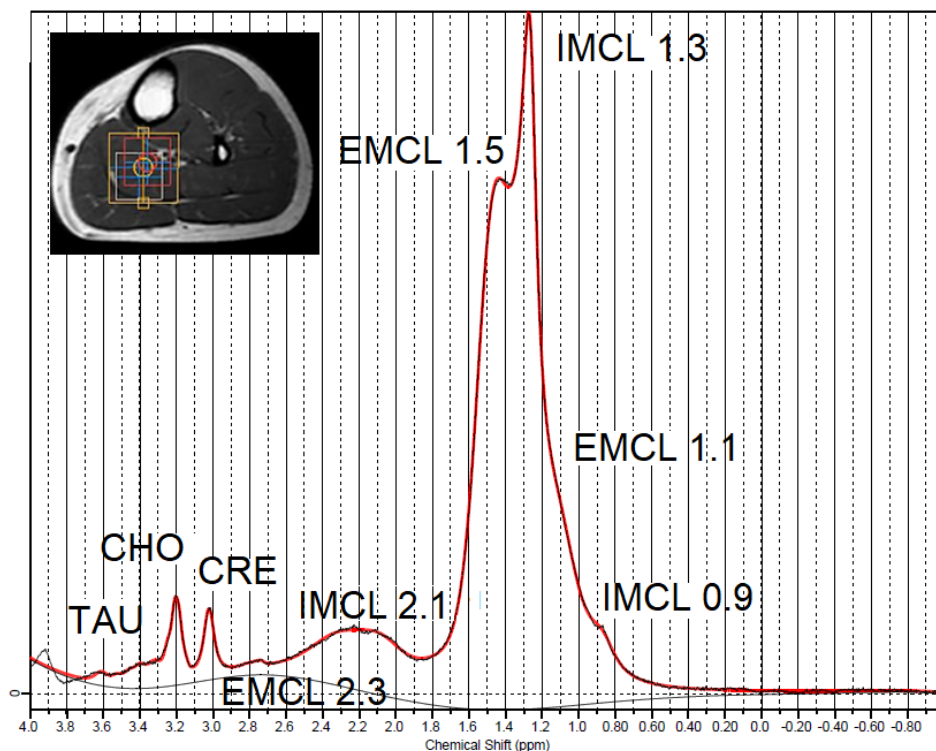
4.7.2 Tíbia Esquerda

Para aquisição das imagens, foi utilizada uma bobina XL torso, posicionada sobre a tíbia proximal. A aquisição foi axial, ponderada em T2, usando a sequência de aquisição fast spin echo (TR/TE=400/11ms; gap=1.0 mm, espessura=4 mm; field of view=22 cm) como referência para posicionar o voxel da espectroscopia de 20 x 20 x 20 mm. Para quantificação dos lipídios intraósseos da tíbia, foi usado o software LC model. Os picos de lipídios correspondem às áreas sob a curva das respectivas frações: insaturado (5,3 ppm), saturado (1,3 ppm) e lipídeos residuais (2,0 ppm). Os picos de lipídeos foram ajustados com o pico da água (4,7 ppm).

4.7.3 Músculo Sóleo

Para a realização da espectroscopia do músculo sóleo, um voxel de 20 x 20 x 49 mm foi posicionado na porção mais larga do músculo sóleo para estimar o conteúdo de lipídio, usando a técnica PRESS com os seguintes parâmetros: TR/TE=2400/36 ms, 48 aquisições com supressão de água e 8 aquisições sem supressão de água. Os lipídios intramiocelulares (IMCL) e extramiocelulares (EMCL) foram quantificados por espectroscopia usando o software LCmodel, considerando a soma dose seguintes picos: 0,9; 1,3 e 2,1 ppm para IMCL; e 1,1; 1,5 e 2,3 ppm para EMCL. As estimativas de IMCL e EMCL foram automaticamente ajustadas para pico de água não supressa e mais tarde expresso como relação IMCL/EMCL (Figura 4).

Figura 4: Espectro obtido por meio de exame de ressonância magnética de hidrogênio, processada no software LCModel. As áreas sob a curva correspondem à quantidade de lipídios intra (0,9; 1,3 e 2,1 ppm) e extramiocelular (1,1; 1,5 e 2,3 ppm) no músculo sóleo.



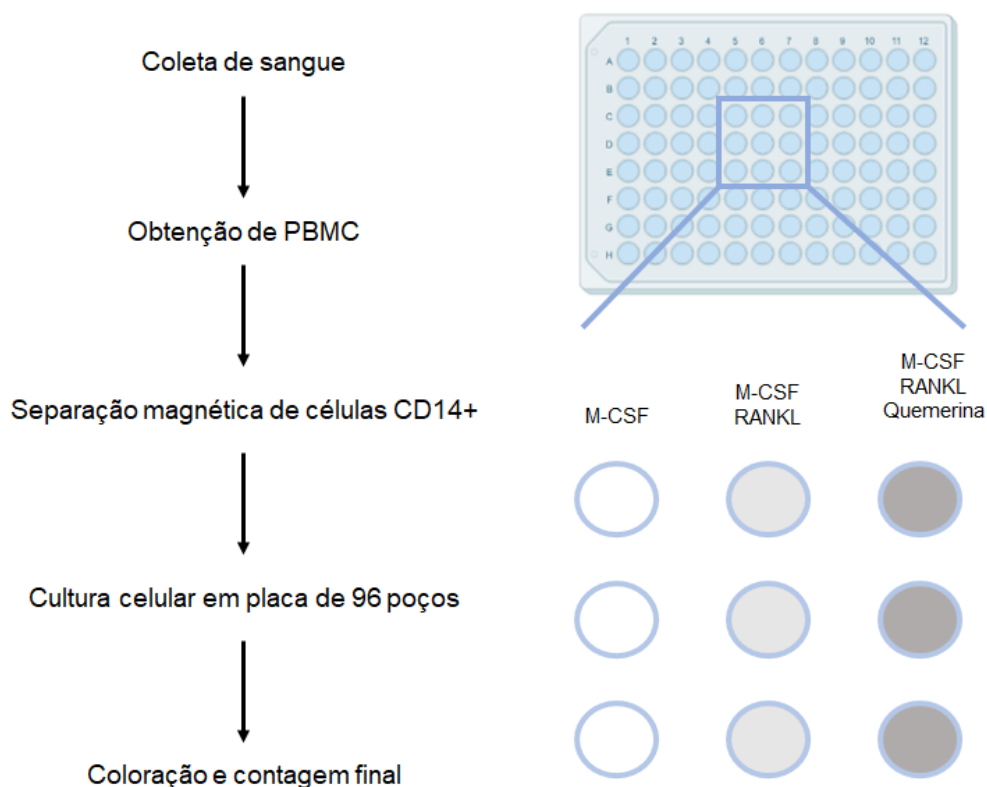
Fonte: elaborado pela autora (2023)

4.8 Osteoclastogênese

Amostras frescas de sangue total foram obtidas de 7 controles e 13 pacientes LPF para obtenção de células mononucleares de sangue periférico (PBMC). As

amostras foram centrifugadas para separação do *buffy coat* usando a solução Histopaque® – 1.077 g/mL (Sigma-Aldrich®, Irvine, Reino Unido) conforme recomendações do fabricante. Em seguida, as PBMCs foram quantificadas e posteriormente submetidas à separação magnética (CD14 MicroBeads, MACS, Miltenyi Biotec®, Teterow, Alemanha) para obtenção de monócitos, a partir dos quais os osteoclastos se desenvolvem. Foram então realizadas culturas celulares com os monócitos em poços de 3x3 de placas de 96-poços em meio α -MEM contendo soro bovino fetal a 10%. Após, foram adicionados em trios, sequencialmente, 25 ng/mL do fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSF) (R&D systems, catálogo 216-MCC, Mineápolis, EUA), 25 ng/mL do receptor ativador de fator nuclear kappa- β (RANKL) (R&D systems, catálogo 390-TN, Mineápolis, EUA) e 50 ng/mL de quemerina (R&D systems, catálogo 2324-CM, Mineápolis, EUA) para estimular a diferenciação dos osteoclastos (Figura 5).

Figura 5: Representação esquemática do processamento das amostras de células mononucleares do sangue periférico (PBMC), cultura celular dos monócitos nos meios de cultura e posterior análise por coloração Giemsa, nas placas de 96 poços



Fonte: elaborado pela autora (2023)

Após um período de cerca de 3 semanas, os osteoclastos que se diferenciaram nos poços foram corados por Giemsa para contagem celular; foram consideradas as células com 3 ou mais núcleos. Os poços foram fotografados e as imagens analisadas usando o software ImageJ para determinação do número e áreas dos osteoclastos.

4.9 Análise estatística

As análises estatísticas e respectivas figuras foram geradas usando o programa R (versão 4.1.3); SAS 9.4 (R Core Team, 2022) e Graphpad Prism 9. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. Todos os dados foram descritos por meio de frequências absolutas e percentuais (variáveis qualitativas) e por meio de medidas como média, desvio-padrão, mediana e quartis (variáveis quantitativas).

Para as comparações entre os grupos foi proposta a análise de covariância (ANCOVA), que além de comparar grupos, permite o ajuste de covariáveis (Montgomery, 2013). Os pressupostos de normalidade dos modelos foram analisados por meio de gráficos pertinentes, como histograma dos resíduos, dispersão e quantil-quantil. Nas situações em que tal pressuposto não foi observado, transformações na variável resposta foram utilizadas. Para as comparações foi utilizado o pós-teste por contrastes ortogonais.

O coeficiente de correlação de Spearman (ρ) foi usado para avaliar a relação das medidas entre si. Um modelo de regressão linear multivariada foi aplicado para avaliar as associações entre variáveis bioquímicas, de densitometria e de ressonância magnética. Esses parâmetros foram submetidos a regressão linear simples e múltipla, antes e após ajuste para possíveis fatores de confusão (sexo, idade, IMC e DM). O coeficiente beta (β) foi usado para estimar o impacto da variável preditora sobre a variável dependente (Montgomery, 2013).

5. Resultados

Os dados inseridos na Tabela 1 mostram que os dois grupos foram adequadamente pareados quanto ao sexo, idade e peso.

Tabela 1: Características gerais e antropométricas dos participantes

	Controle (n=23)	Lipodistrofia (n=20)	p
Sexo	18 (F), 5 (M)	16 (F), 4 (M)	0,99
Idade (anos)	38,6 ± 9,6	39,5 ± 10,6	0,76
Altura (m)	1,67 ± 0,08	1,63 ± 0,09	0,67
Peso (Kg)	73,9 ± 15,2	72,2 ± 20,7	0,76
IMC (Kg/m ²)	26,3 ± 4,5	26,8 ± 5,1	0,75

IMC: índice de massa corporal

As lipodistrofias parciais familiares são uma condição rara, com uma prevalência estimada em 2,8 casos/milhão de pessoas (Chiquette et al., 2017); a LPF2, tipo mais comum, tem cerca de 500 pacientes descritos na literatura, enquanto a LPF3, segundo subtipo mais comum, cerca de 30-50 pacientes (Hussain; Garg, 2016). Portanto, a seleção dos pacientes com LPF foi formada por uma amostra de conveniência.

Dos 20 pacientes incluídos no grupo LPF, 19 tem análise genética realizada. Essas informações estão resumidas na Tabela 2. A mutação mais prevalente foi a substituição da arginina pelo triptofano C → U no códon 482 do éxon 8, no gene *LMNA* (p.R482W), localizado no cromossomo 1q21.2 e presente em 9/19 pacientes (47,3%). Desses pacientes, 4 pertencem à mesma família (pacientes n.1 a 4), enquanto os outros 5 não apresentam laços. Os demais pacientes apresentam mutações *LMNA* não-482: 3/19 pacientes (15,7%) da mesma família apresentam uma substituição da arginina pela cisteína, R → C, no códon 644 do éxon 11 (p.R644C) e 1/19 paciente (5,2%) apresenta substituição de serina por leucina, C → T, no códon 583 do éxon 11 (p.S583L). A mutação no gene *LMNA* causa a LPF2.

Um paciente (n.20) apresenta mutação no gene *LPL*, em que ocorre substituição de glicina por ácido glutâmico, G → E, no códon 215 (p.G215E), associada à deficiência da lipoproteína lipase, cujo quadro clínico cursa com hipertrigliceridemia e episódios mais frequentes de pancreatite. Esse paciente possui perfil metabólico, ósseo e de adiposidade de medula semelhante aos pacientes LPF2. Sua presença na análise final não resultou em mudanças significativas nos resultados

entre pacientes e controles, nem nas análises de correlação e regressão. Portanto, ele foi mantido como parte do grupo LPF2 nas análises realizadas. Em três pacientes avaliados, não foram encontradas variantes patológicas, porém todos têm critérios clínicos e bioquímicos de lipodistrofia, e, portanto, foram mantidos no estudo. Uma paciente (n.19) participou de toda a coleta de dados e preenche critérios clínicos e bioquímicos, porém perdeu seguimento e não realizou a análise genética.

Tabela 2: Características genéticas, clínicas e bioquímicas do grupo lipodistrofia.

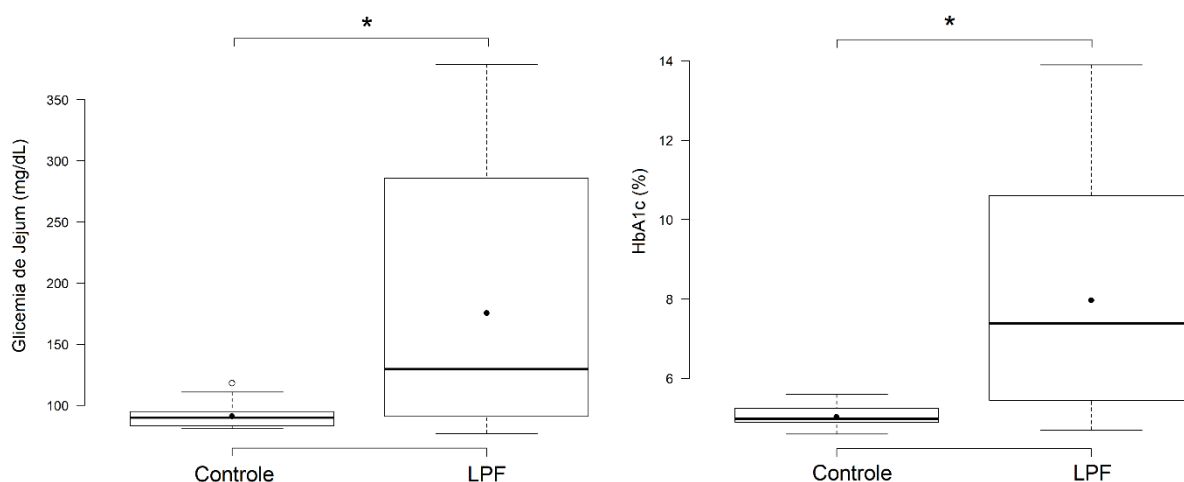
N	Sexo	Mutação	IMC (Kg/m ²)	DM	Triglicérides (mg/dL)	Fat Mass Ratio	%GMMII
1	F	<i>LMNA</i> p.R482W	23,6	Sim	245	1,91	15,5
2	F	<i>LMNA</i> p.R482W	20,1	Sim	355	0,99	14,3
3	F	<i>LMNA</i> p.R482W	20,0	Não	280	1,17	16,8
4	F	<i>LMNA</i> p.R482W	21,0	Sim	401	1,32	15,4
5	F	<i>LMNA</i> p.R482W	26,5	Sim	107	1,68	19,2
6	F	<i>LMNA</i> p.R482W	24,7	Sim	612	1,73	16,8
7	F	<i>LMNA</i> p.R482W	24,4	Sim	599	1,48	19,6
8	F	<i>LMNA</i> p.R482W	28,0	Não	808	1,43	17,5
9	F	<i>LMNA</i> p.R482W	24,1	Não	546	1,46	15,8
10	F	<i>LMNA</i> p.R644C	30,3	Sim	142	1,77	23,1
11	F	<i>LMNA</i> p.R644C	21,9	Sim	179	1,57	21,1
12	M	<i>LMNA</i> p.R644C	31,6	Não	197	1,60	24,2
13	F	<i>LMNA</i> p.S583L	25,7	Sim	182	1,79	24,9
14	F	<i>PPARG</i> p.E352K	30,1	Sim	504	1,40	27,8
15	M	<i>PPARG</i> p.E352K	29,5	Não	1.100	1,60	18,3
16	F	Sem variantes	30,9	Sim	724	2,12	19,6
17	M	Sem variantes	37,5	Sim	419	1,44	29,3
18	F	Sem variantes	27,2	Sim	101	1,72	25,4
19	F	Não realizado	21,9	Sim	665	1,05	14,8
20	M	<i>LPL</i> p.G215E	36,7	Sim	1.509	1,91	20,3

A mutação no gene *PPAR*, localizado no cromossomo 3p25.2, uma substituição de ácido glutâmico por lisina, E → K, no códon 352 (p.E352K) foi encontrada em uma paciente e seu irmão (10,5%). A mutação nesse gene causa a LPF3. Os dados desses pacientes foram incluídos nos exames laboratoriais e também são mostradas em separado na análise descritiva entre os grupos, mais a frente. Ambos foram excluídos da análise por densitometria óssea e ressonância magnética, com descrições a parte, pois, diferente da mutação no *LPL*, a mutação no *PPAR* associou-se a mudanças

significativas na DMO e na adiposidade de medula óssea em comparação com os pacientes do grupo LPF2/ Síndrome de Dunnigan.

Dentre os exames laboratoriais, vale ressaltar, inicialmente, os valores de glicemia de jejum e hemoglobina glicada – HbA1c, ambos elevados no grupo LPF, como esperado (Figura 6). No grupo controle, três indivíduos do sexo feminino apresentaram glicemia de jejum alterada, com valores de HbA1c sem critérios para pré-diabetes (HbA1c inferior a 5,7%), sendo duas com IMC de sobrepeso e uma com IMC de obesidade grau 1. Não foram realizadas novas coletas nessas pacientes, nem teste oral de tolerância à glicose (TOTG 75g), para confirmar essas alterações. Nenhum paciente do grupo controle usava antidiabéticos orais ou medicações que pudessem interferir no controle glicêmico na data da coleta dos exames.

Figura 6: Glicemia de jejum e hemoglobina glicada do grupo controle e lipodistrofia (LPF).



* $p < 0,05$. Fonte: elaborado pela autora (2023)

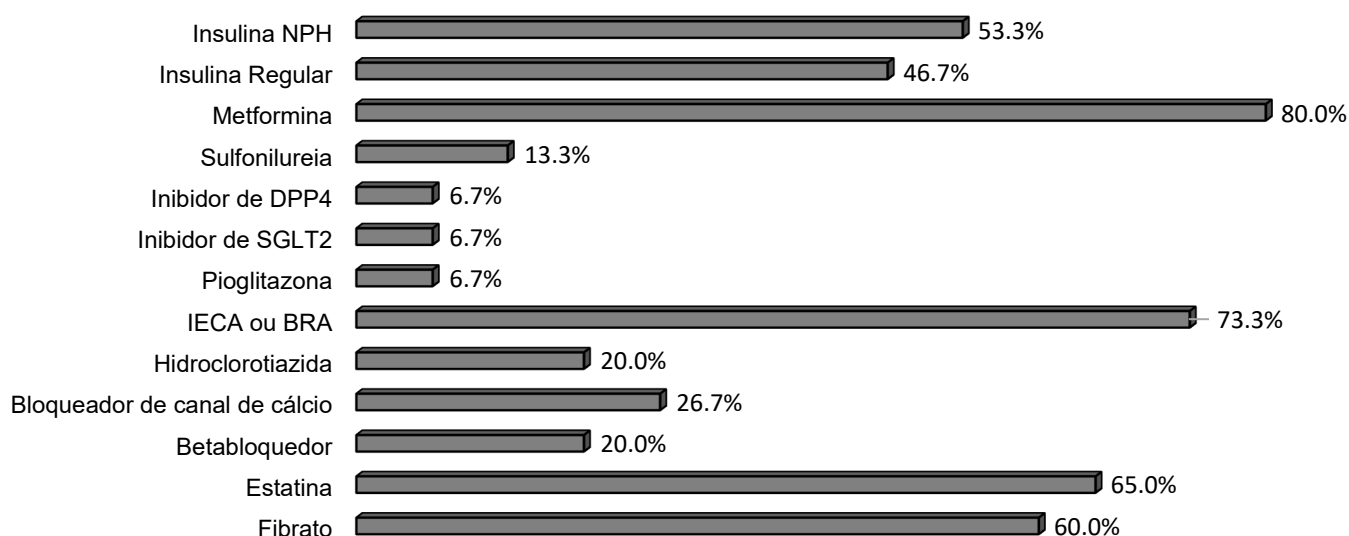
Já no grupo LPF, apenas 5 dos 20 indivíduos (25,0%, 3F e 2M) não tinham diagnóstico de DM. Vale ressaltar que entre os indivíduos desse subgrupo um estava em uso de metformina para pré-diabetes/resistência insulínica. Ainda, nesse subgrupo LPF, dois apresentavam IMC normal, dois compatíveis com sobrepeso, e um com obesidade grau 1.

Na amostra total, 75% (15/20) dos pacientes com LPF apresentavam diagnóstico de DM. Entre as mulheres com LPF, a prevalência de DM foi de 81% (13/16); já entre os homens, foi de 50% (2/4). A média de idade dos pacientes LPF sem DM era de $31,4 \pm 13,5$ anos, e dos pacientes com DM, de $42,2 \pm 8,3$ anos. O

tempo médio de diagnóstico de DM foi de $10,5 \pm 5,6$ anos. No subgrupo LPF com diabetes, todos usavam antidiabéticos orais, sendo a metformina a mais utilizada (80%); 1 paciente fazia uso de pioglitazona (6,7%) e mais da metade dos pacientes diabéticos usavam insulina NPH, regular ou ambas para controle glicêmico (53,3%).

O segundo grupo mais usado de medicações foi o de hipolipemiantes (65%), incluindo-se estatinas, fibratos ou a combinação de ambos. Em terceiro lugar, os anti-hipertensivos, usados por 55% dos pacientes, com destaque para bloqueadores do receptor da angiotensina II (BRA) e inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA). Esses dados são descritos no gráfico de barras com a frequência das medicações na Figura 7.

Figura 7: Gráfico de frequências das medicações usadas no grupo lipodistrofia.



Fonte: elaborado pela autora (2023)

Uma característica importante da LPF é o quadro de resistência insulínica, síndrome metabólica e DHGM. Desta estimativa, foram excluídos 9 pacientes LPF que já faziam uso de insulina. No grupo LPF, os valores de insulina e o índice de HOMA-IR, cujo ponto de corte na população brasileira é 2,7 (Geloneze *et al.*, 2009), foram significativamente maiores quando comparados ao grupo C. Todos os pacientes com LPF incluídos na análise apresentaram HOMA-IR acima de 2,7, enquanto no grupo controle 39% (9/23) apresentaram HOMA-IR acima de 2,7.

O perfil lipídico nos pacientes com LPF foi compatível com síndrome metabólica, sendo observados valores mais baixos de HDL-colesterol e

hipertrigliceridemia. Não foram observadas diferenças nos valores de colesterol total e LDL-colesterol. A transaminase pirúvica (TGP) ou alanina aminotransferase (ALT), enzima mais associada à lesão hepática, e a fosfatase alcalina estavam mais elevadas no grupo LPF que no grupo C. Os resultados laboratoriais são descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Resultados dos exames bioquímicos de controles e todos os pacientes

	Referência	Controle (n=23)	Lipodistrofia	p
Glicemia (mg/dL)	70,0–100,0	91,2 ± 9,7	172,8 ± 103,2	<0,01
HbA1c (%)	4,7–5,6	5,0 (4,9–5,3)	7,4 (5,6–9,9)	<0,01
Insulina (µUI/mL)	2,0–25,0	10,7 ± 6,8	24,2 ± 16,5 #	<0,01
HOMA-IR	<2,7	2,1 (1,0–3,5)	4,7 (4,1–8,1) #	<0,01
Colesterol total (mg/dL)	<190,0	169,8 ± 30,5	192,8 ± 58,1	0,11
HDLc (mg/dL)	>40,0	53,6 ± 13,9	32,1 ± 10,8	<0,01
LDLc (mg/dL)	<130,0	97,7 ± 26,5	87,5 ± 32,6	0,28
Triglicérides (mg/dL)	<150,0	75,0 (51,0–116,0)	410,0 (221,0–638,5)	<0,01
Cálcio Total (mg/dL)	8,5–10,5	9,0 ± 0,3	9,9 ± 2,3	<0,05
Albumina (g/dL)	3,5–5,0	4,4 ± 0,3	4,6 ± 1,3	0,63
Fósforo (mg/dL)	2,5–5,5	3,9 ± 0,6	4,4 ± 1,3	0,13
FA (U/L)	40,0–150,0	58,5 (50,0–71,8)	88,0 (61,0–122,0)	<0,01
Ureia (mg/dL)	10,0–45,0	29,0 (26,4–35,8)	29,0 (24,0–35,0)	0,73
Creatinina (mg/dL)	0,6–1,2	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,16
TGO (U/L)	10,0–40,0	21,0 (17,0–27,0)	21,5 (10,0–96,0)	0,11
TGP (U/L)	5,0–40,0	19,7 (13,6–28,0)	26,5 (20,8–50,0)	<0,01
TSH (µUI/mL)	0,400–4,500	1,970 (1,380–	2,310 (1,330–3,280)	0,75
CPK (U/L)	30,0–200,0	93,0 (60,0–125,5)	124,5 (95,0–176,0)	0,05
25(OH)D (ng/mL)	>20,0	25,5 ± 8,3	18,4 ± 7,9	<0,01
PTH (pg/mL)	15,0–65,0	69,4 ± 28,6	39,4 ± 15,7	<0,01
Osteocalcina (ng/mL)	11,0–46,0	22,6 ± 5,5	17,2 ± 6,4	<0,01
Leptina (ng/mL)	6,5–19,1	7,0 (4,1–32,8)	4,7 (2,9–12,2)	<0,05
Quemerina (ng/mL)	0,3–8,0	4,7 ± 0,9	4,9 ± 1,2	0,70

#excluídos pacientes em uso de insulina. Dados são expostos em média ± desvio-padrão ou mediana (Q1-Q3). Abreviações: HbA1c – hemoglobina glicada; HOMA-IR – Homeostase Model Assessment; HDLc – lipoproteína de alta densidade; LDLc – lipoproteína de baixa densidade; FA – fosfatase alcalina; TGO – transaminase oxalacética; TGP – transaminase pirúvica; TSH – hormônio tireoestimulante; CPK – creatino fosfoquinase; PTH – hormônio paratireoideiano

Dentre os exames ligados ao metabolismo mineral, destacam-se os valores de 25(OH)D, PTH e osteocalcina. As taxas de 25(OH)D e PTH no grupo LPF foram significativamente inferiores em relação ao grupo controle, enquanto que não houve diferenças entre os grupos em relação às taxas circulantes de cálcio e fósforo. A osteocalcina sérica, marcador de formação óssea e relacionada à sensibilidade

insulínica, foi menor no grupo LPF em relação ao C. Com relação a outras variáveis, como função renal, transaminase oxalacética (TGO), CPK e TSH, não foram observadas diferenças.

Das adipocinas avaliadas, os valores de leptina foram menores no grupo LPF que no controle. Na avaliação laboratorial incluindo somente os pacientes do tipo LPF2, excluídos os LPF3, o valor também foi menor, porém não significativo ($C = 17,5 \pm 16,3$ ng/mL e LPF2 = $7,5 \pm 5,3$ ng/ml, $p=0,07$). Já em relação à quemerina, não houve diferença entre os grupos. A Tabela 4 fornece a descrição das médias de exames bioquímicos do grupo LPF2 comparadas com os 2 pacientes LPF3.

Tabela 4: Resultados dos exames bioquímicos do grupo LPF2 e pacientes LPF3

	Referência	LPF2 (n=18)	LPF3 – 1	LPF3 – 2
Glicemia (mg/dL)	70,0–100,0	175,4	193,0	105,0
HbA1c (%)	4,7–5,6	8,0	8,3	5,9
Insulina (μ UI/mL)	2,0–25,0	26,4	7,0	18,0
HOMA-IR	<2,7	6,6	3,3	4,7
Colesterol total (mg/dL)	<190,0	186,5	157,0	343
HDLc (mg/dL)	>40,0	33,2	25,0	20,0
LDLc (mg/dL)	<130,0	91,2	65,0	50,0
Triglicérides (mg/dL)	<150,0	453,7	504,0	1100,0
Cálcio Total (mg/dL)	8,5–10,5	10,0	9,8	8,3
Albumina (g/dL)	3,5–5,0	4,6	5,1	4,5
Fósforo (mg/dL)	2,5–5,5	4,5	3,9	2,6
FA (U/L)	40,0–150,0	109,8	41,0	57,0
Ureia (mg/dL)	10,0–45,0	28,9	37,0	59,0
Creatinina (mg/dL)	0,6–1,2	0,8	0,7	1,4
TGO (U/L)	10,0–40,0	30,7	22,0	33,0
TGP (U/L)	5,0–40,0	42,0	18,0	29,0
TSH (μ UI/mL)	0,400–4,500	2,470	1,820	2,650
CPK (U/L)	30,0–200,0	133,9	175,0	348,0
25(OH)D (ng/mL)	>20,0	18,7	22,1	10,5
PTH (pg/mL)	15,0–65,0	37,9	39,0	66,4
Osteocalcina (ng/mL)	11,0–46,0	17,8	5,1	18,7
Leptina (ng/mL)	6,5–19,1	7,5	2,9	1,6
Quemerina (ng/mL)	0,3–8,0	4,8	4,6	6,7

Abreviações: HOMA-IR – Homeostase Model Assessment; HDLc – lipoproteína de alta densidade; LDLc – lipoproteína de baixa densidade; TGO – transaminase oxalacética; TGP – transaminase pirúvica; TSH – hormônio tireoestimulante; CPK – creatino fosfoquinase; PTH – hormônio paratireoidiano

Regularidade menstrual, perfil de hormônios androgênicos e síndrome de ovários policísticos não foram avaliados nesse estudo.

A análise da massa óssea pela densitometria apresenta valores similares entre os grupos. Os dados densitométricos estão expostos na Tabela 5.

Tabela 5: Resultados da densitometria óssea de controles e pacientes

		Controle (n=23)	LPF2 (n=18)	p
Coluna lombar (L1-L4)	DMO (g/cm ²)	1,200 ± 0,160	1,180 ± 0,210	0,79
	Z-score	0,2 ± 1,5	0,2 ± 1,7	0,97
Fêmur total	DMO (g/cm ²)	1,000 ± 0,150	1,040 ± 0,190	0,50
	Z-score	0,1 ± 1,1	0,4 ± 1,5	0,41
Colo do fêmur	DMO (g/cm ²)	0,990 ± 0,130	1,020 ± 0,210	0,56
	Z-score	0,0 ± 1,0	0,3 ± 1,5	0,47
Rádio 33%	DMO (g/cm ²)	0,890 ± 0,090	0,810 ± 0,120	<0,05
	Z-score	-0,1 ± 0,8	-0,9 ± 1,1	<0,05
Corpo total	DMO (g/cm ²)	1,205 ± 0,130	1,116 ± 0,190	0,08
	Z-score	1,0 ± 1,3	0,3 ± 1,7	0,09
	CMO (g)	2506 ± 0,467	2284 ± 0,620	0,19
TBS (L1-L4)		1,440 ± 0,080	1,310 ± 0,110	<0,01

Dados são expostos em média ± desvio-padrão ou mediana (Q1-Q3). TBS – escore trabecular ósseo

Como a maior parte dos pacientes tinha idade inferior a 50 anos e era composta de mulheres em idade fértil, foi optado por expressar os dados de densitometria em Z-score. A DMO e o Z-score não foram significativamente diferentes entre os grupos LPF2 e C nos sítios coluna lombar (L1-L4), quadril total (QT) e colo do fêmur (CF). Já a DMO do sítio antebraço (rádio 33%), mais rico em osso cortical, foi menor no grupo LPF2 que no C, tanto quando expresso como g/cm² quanto por Z-score.

No grupo C, um paciente do sexo masculino (1/23) apresentou baixa massa óssea no sítio coluna lombar, mas não foram identificados histórico de doenças ou fraturas e os exames bioquímicos não sugeriram causas secundárias. No grupo LPF2, duas pacientes do sexo feminino (2/18) exibiram baixa massa óssea tanto na coluna lombar quanto no antebraço; ambas tinham menos de 50 anos de idade, não estavam na menopausa, possuem a mesma mutação (*LMNA* p.R482W) e são da mesma família (pacientes nº2 e nº4 na Tabela 2).

A Tabela 6 mostra a análise descritiva comparando os pacientes LPF3 com a média do grupo LPF2. Ambos possuem DMO e Z-score aumentados em relação ao grupo LPF2 em todos os sítios avaliados, inclusive no rádio 33%, e maior conteúdo mineral ósseo.

Tabela 6: Dados descritivos da densitometria óssea do grupo LPF2 e pacientes LPF3

		LPF2	LPF3 – 1	LPF3 – 2
Coluna lombar (L1-L4)	DMO (g/cm ²)	1,180	1,370	1,510
	Z-score	0,2	1,6	2,6
Fêmur total	DMO (g/cm ²)	1,040	1,340	1,230
	Z-score	0,4	2,8	1,2
Colo do fêmur	DMO (g/cm ²)	1,020	1,360	1,090
	Z-score	0,3	2,7	0,7
Rádio 33%	DMO (g/cm ²)	0,810	1,040	1,110
	Z-score	-0,9	1,9	1,2
Corpo total	DMO (g/cm ²)	1,116	1,282	1,369
	Z-score	0,3	2,0	1,7
	CMO (g)	2284	2976	3432
TBS (L1-L4)		1,310	1,470	1,330

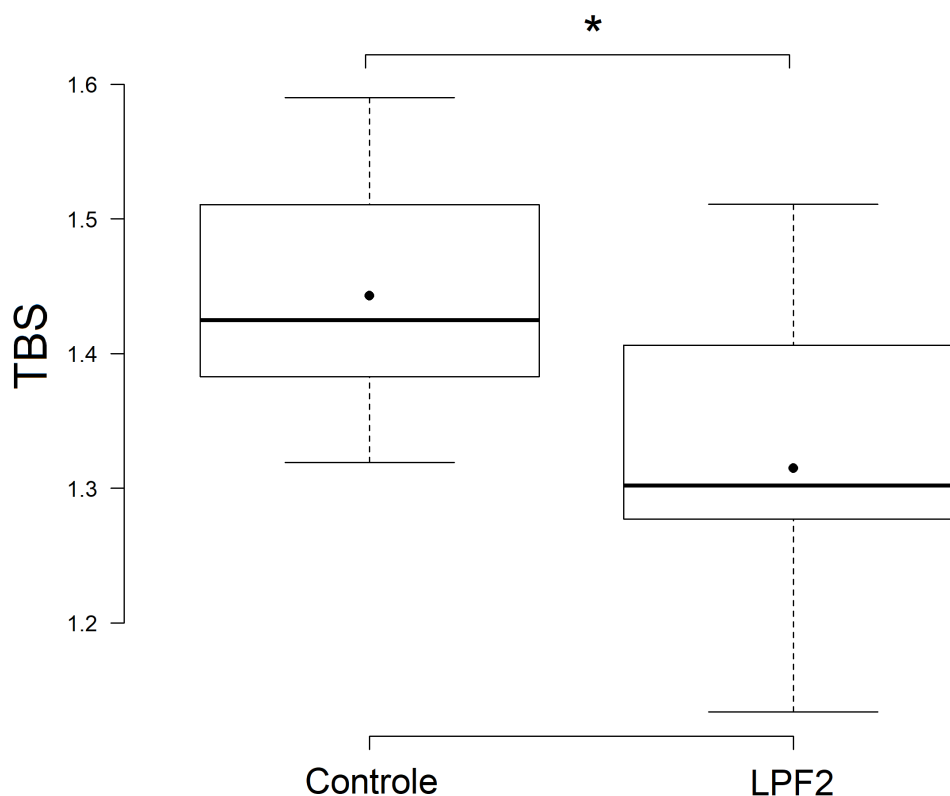
TBS – escore trabecular ósseo; CMO – conteúdo mineral ósseo

Para avaliação da microarquitetura óssea, foi utilizado o software TBS. Não existe consenso em relação aos valores de corte do TBS e nem ajuste para a população brasileira. Pode-se adotar uma abordagem baseada no grau de deterioração óssea, em que TBS maior ou igual a 1,350 indica microarquitetura “preservada”, TBS entre 1200 e 1350 indica microarquitetura “parcialmente degradada” e TBS menor ou igual a 1,200 indica microarquitetura “degradada” (Cormier; Lamy; Poriau, 2012); ou uma abordagem baseada no risco de fratura, na qual TBS acima de 1,310 apresenta baixo risco de fratura, TBS entre 1,230-1,310 risco intermediário de fratura e TBS abaixo de 1,230 risco alto de fratura (McCloskey *et al.*, 2015).

Na figura 8 observa-se que o grupo LPF2 (TBS = 1,310) apresentou TBS significativamente menor quando comparado ao grupo C (TBS = 1,440).

Os dois pacientes LPF3 (TBS de 1,470 e 1,330, respectivamente) apresentam TBS acima da média do grupo LPF2, e são classificados como baixo risco de fratura, LPF3 – 1 com osso normal, LPF3 – 2 com osso parcialmente degradado (Tabela 6).

Figura 8: Escore trabecular ósseo (TBS) do grupo controle (C) e lipodistrofia (LPF2).

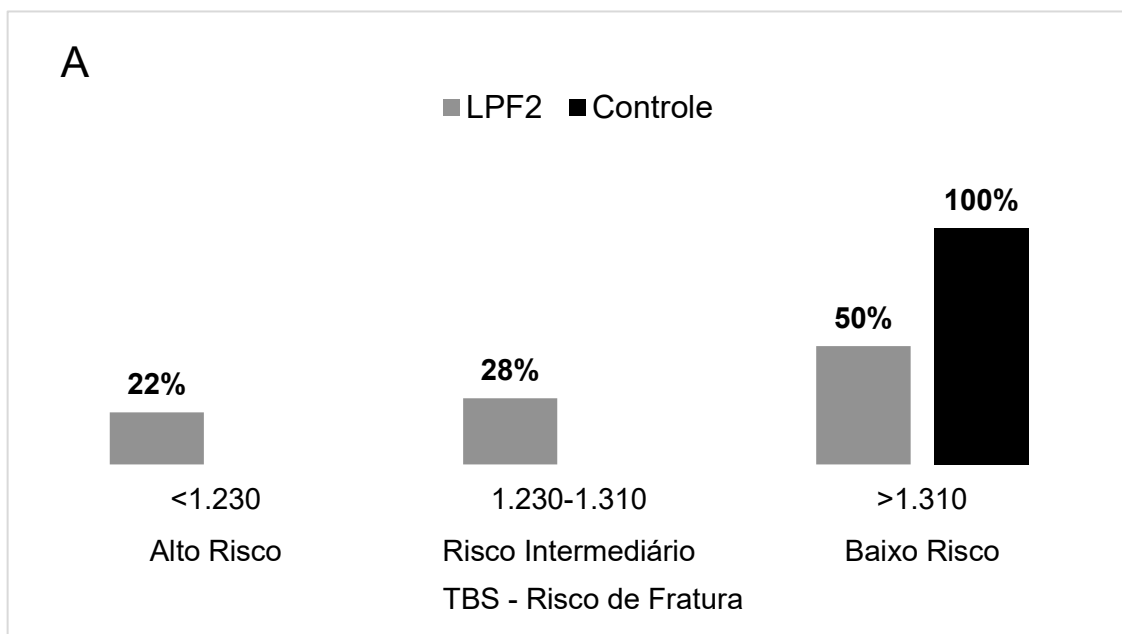


* $p < 0,05$. Fonte: elaborado pela autora (2023)

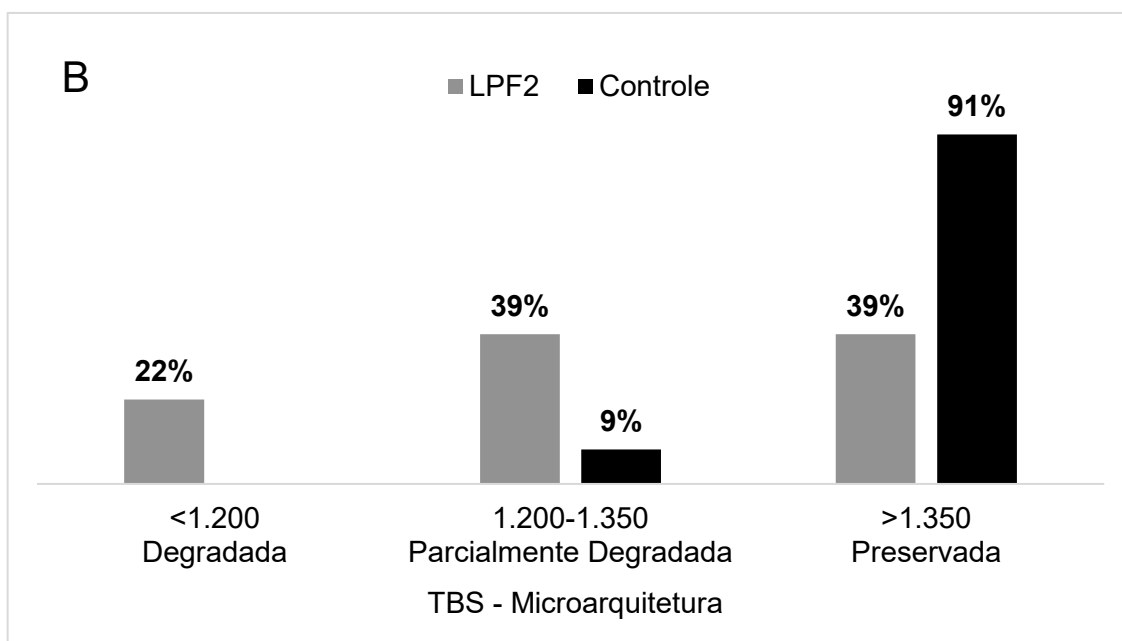
Todos os pacientes do grupo C apresentaram risco de fratura baixo (TBS maior que 1,310), mas na classificação de deterioração óssea, 2/23 exibiram microarquitetura parcialmente degradada (TBS respectivamente de 1,319 e 1,330) e os demais microarquitetura óssea preservada.

No grupo LPF2, 4 pacientes (22%) apresentam alto risco de fratura e massa óssea degradada; 5 pacientes (28%) apresentam risco intermediário de fratura e 7 (39%) massa óssea parcialmente degradada, enquanto 9 pacientes (50%) apresentam baixo risco de fratura e 7 (39%) massa óssea preservada (Figura 9).

Figura 9: Distribuição de controles e pacientes LPF2 conforme risco de fratura (A) e microarquitetura óssea (B) pelo TBS.



Fonte: McCloskey *et al* (2018)



Fonte: elaborado pela autora (2023)

Quanto à composição corporal, as diferenças foram bem marcantes e evidenciam o padrão de redistribuição de gordura que caracteriza os pacientes com LPF (Tabela 7). O grupo LPF2 apresenta evidente e significativa redução da gordura corporal total, principalmente da gordura presente em membros inferiores. Das 15 mulheres, nenhuma apresentou valores acima do 1º percentil de 25,8%. Nenhuma mulher do grupo controle apresentou valor abaixo de 25,8% (Vasandani *et al.*, 2020).

A relação androide/ginoide foi significativamente maior no grupo LPF2 que no C. O tecido adiposo visceral em gramas, estimado pela densitometria, foi quase duas vezes maior no grupo LPF2.

Tabela 7: Resultados da composição corporal por densitometria óssea dos grupos controle e LPF2

		Controle (n=23)	LPF2 (n=18)	p
Gordura corporal total (%)		35,0 ± 9,0	26,0 ± 7,0	<0,01
Gordura membros inferiores (%)		38,0 ± 9,0	20,0 ± 4,0	<0,01
Gordura membros inferiores (%)	Mulheres	40,5 ± 7,8	18,7 ± 3,6	<0,01
Massa Magra (Kg)		41,7 (38,6–47,3)	46,2 (43,2–54,6)	0,13
Tecido adiposo visceral (g)		663,1 ± 502,0	1247,9 ± 706,9	<0,01
Relação androide/ginoide		0,9 ± 0,3	1,3 ± 0,4	<0,01
Índice de Massa Gorda (Kg/m ²)		9,49 ± 3,57	7,32 ± 3,13	0,05
IMM – Baumgartner (Kg/m ²)		7,54 ± 1,53	8,10 ± 1,67	0,27
IMM – Baumgartner (Kg/m ²)	Mulheres	6,85 ± 0,81	7,53 ± 1,08	0,05
FNIH		0,810 ± 0,170	0,810 ± 0,140	0,97
FNIH	Mulheres	0,750 ± 0,120	0,790 ± 0,120	0,36
Massa Gorda Tronco/MGT (%)		46,0 ± 7,0	61,0 ± 6,6	<0,01
Fat Mass Ratio		0,95 ± 0,21	1,56 ± 0,30	<0,01
Fat Mass Ratio	Mulheres	0,88 ± 0,18	1,55 ± 0,32	<0,01

Dados são expostos em média ± desvio-padrão ou mediana (Q1-Q3). IMM – Índice de Massa Magra, Valor de Referência (VR) M > 7,26 e F > 5,45; FNIH (Foundation for The National Institutes of Health) VR M > 0,789 e F > 0,512; MGT – massa gorda total.

Como esperado, os indivíduos do grupo LPF2 apresentaram FMR significativamente maior que o grupo controle, com valor médio acima do limiar de corte (FMR maior ou igual a 1,2) estabelecido para caracterização de pacientes com lipodistrofia (Bonnet *et al.*, 2005; Valerio *et al.*, 2007, 2012). Entre as mulheres com LPF2, 3/15 apresentaram FMR menor que 1,2, sendo duas com mutação *LMNA* e 1 sem avaliação. Além disso, nas mulheres do grupo controle, somente 1/18 apresentou FMR maior que 1,2.

A massa magra foi semelhante entre o grupo C e LPF2. O índice de massa magra (IMM) ou índice de Baumgartner, não apresentou diferença entre os grupos, mas quando excluídos os homens da análise houve tendência à distinção ($p=0,05$), com predomínio de maior massa magra no grupo de mulheres com lipodistrofia.

O índice FNIH para avaliação de sarcopenia (Studenski *et al.*, 2014) não foi diferente entre os grupos, mesmo após exclusão dos homens (Tabela 7). Os pacientes LPF3 apresentaram TAV elevado, massa magra e índice de massa magra maiores em relação ao grupo LPF2 (Tabela 8).

Tabela 8: Resultados da composição corporal por densitometria óssea do grupo LPF2 e pacientes LPF3

	LPF2	LPF3 – 1	LPF3 – 2
Gordura corporal total (%)	26,0	29,0	24,0
Gordura membros inferiores (%)	20,0	28,0	18,0
Massa Magra (Kg)	50,2	58,3	64,9
Tecido adiposo visceral (g)	1247,9	1699,0	2252,0
Relação androide/ginoide	1,3	1,2	1,7
Índice de Massa Gorda (Kg/m ²)	7,3	8,8	7,1
IMM – Baumgartner (Kg/m ²)	8,10	8,65	9,72
FNIH	0,810	0,800	1,000
Massa Gorda Tronco/MGT (%)	61,0	61,0	65,0
Fat Mass Ratio	1,56	1,40	1,60

IMM – Índice de Massa Magra, Valor de Referência (VR) M > 7,26 e F > 5,45; FNIH – VR M > 0,789 e F > 0,512; MGT – massa gorda total; Fat Mass Ratio – razão entre percentual de gordura em tronco e percentual de gordura em membros inferiores

Outra análise realizada na densitometria foi o uso das sombras de gordura (Fat Shadows) com o objetivo de auxiliar na identificação visual dos pacientes com lipodistrofia, conforme descrito por Meral *et al.* (2018). As imagens resultantes foram comparadas com a de controles eutróficos e obesos, e podem ser vistas na Figura 10.

As sombras de gordura de todos os controles e pacientes incluídos neste trabalho, em ordem crescente de IMC, podem ser encontradas nos apêndices A e B.

Figura 10: Sombras de gordura (Fat Shadows), obtidas por meio da densitometria óssea, de 5 pacientes e 5 controles.

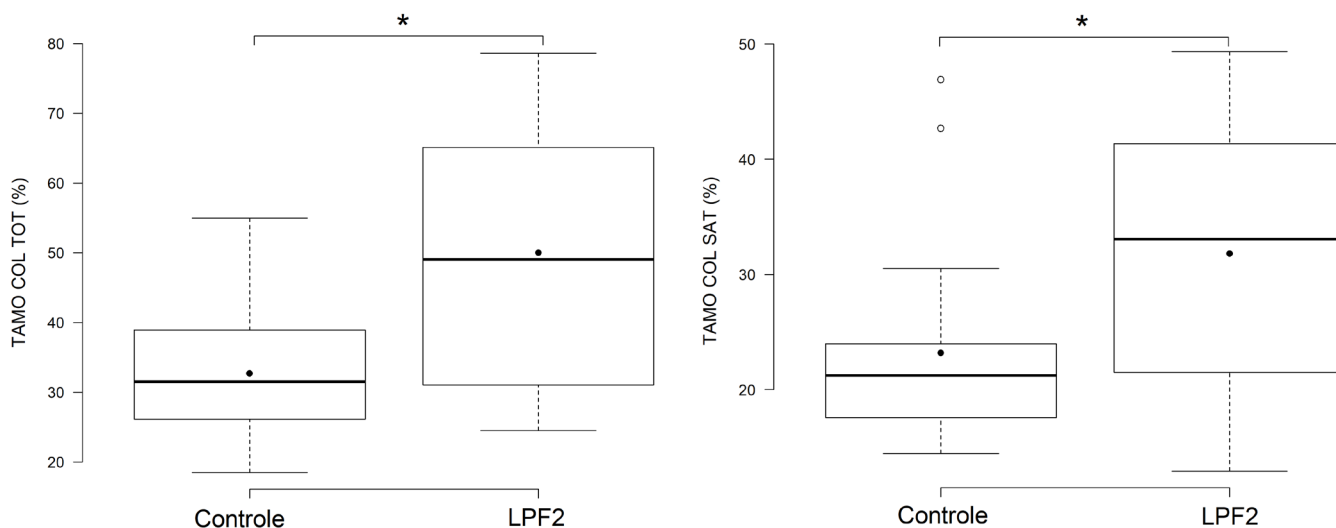


IMC – índice de massa corporal; TAV – tecido adiposo visceral; A/G – relação androide/ginoide; FMR – fat mass ratio. Fonte: elaborado pela autora (2023)

O tecido adiposo de medula óssea (TAMO) foi avaliado por espectroscopia de hidrogênio na ressonância magnética. Na vértebra L3, a quantidade de TAMO foi

maior no grupo LPF2 ($50,0 \pm 17,8\%$), quando comparado ao C ($32,7 \pm 9,6\%$), com predomínio da fração saturada (Figura 11). Não houve diferença na quantificação da fração insaturada entre os grupos.

Figura 11: Tecido adiposo de medula óssea (TAMO) total e fração saturada em coluna lombar dos grupos controle e LPF2.



* $p < 0,05$. TAMO, tecido adiposo de medula óssea total e saturado
Fonte: elaborado pela autora (2023)

No sítio da tíbia, a quantidade de TAMO total e a sua fração insaturada não foi diferente entre controles e pacientes, entretanto o grupo C apresentou a fração saturada significativamente maior em relação ao grupo LPF2.

Também foram avaliadas as quantidades de gordura intra (IMCL) e extramiocelular (EMCL). Em ambas as análises, o grupo LPF2 apresentou valores elevados quando comparado ao grupo controle, de forma significativa na variável IMCL. Não foram observadas diferenças na relação IMCL/EMCL.

Os dados obtidos da ressonância magnética e espectroscopia de ^1H estão resumidos na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados da espectroscopia na coluna (L3), tíbia esquerda e músculo sóleo dos grupos controle e LPF2

	Controle (n=20)	LPF2 (n=16)	p
TAMO Coluna total (%)	32,7 ± 9,6	50,0 ± 17,8	<0,05
TAMO Coluna saturada (%)	23,2 ± 8,9	31,8 ± 11,2	<0,05
TAMO Coluna insaturada (%)	2,5 (0,9–4,3)	4,3 (2,0–12,0)	0,12
TAMO Tíbia total (%)	93,2 ± 2,8	87,9 ± 13,7	0,56
TAMO Tíbia saturada (%)	39,5 (37,7–41,2)	38,3 (36,3–40,3)	<0,05
TAMO Tíbia insaturada (%)	7,4 ± 1,9	7,2 ± 2,1	0,80
Gordura intramiocelular (IMCL)	590,2 (350,0–955,5)	1025,9 (820,7–1511,4)	<0,05
Gordura extramiocelular (EMCL)	2373,3 (1616,2–3047,9)	2509,0 (1863,0–3553,1)	0,13
Relação IMCL/EMCL	0,32 ± 0,18	0,46 ± 0,28	0,20

Dados são expostos em média ± desvio-padrão ou mediana (Q1-Q3). TAMO – tecido adiposo de medula óssea

A comparação dos dados (médias) obtidos da ressonância magnética nos tipos de LPF é exibida na tabela 10. Observou-se na paciente LPF3 – 1 uma quantidade nitidamente reduzida de TAMO em coluna e suas frações, porém o mesmo padrão não foi observado no TAMO de tíbia, que foi semelhante em ambos os pacientes LPF3 e comparável com o grupo LPF2. Já as gorduras musculares IMCL e EMCL foram menores, com relação IMCL/EMCL reduzida na paciente LPF3 – 1, mas semelhante ao grupo LPF2 no paciente LPF3 – 2. O paciente LPF3 – 2 não realizou a RM de coluna lombar por claustrofobia.

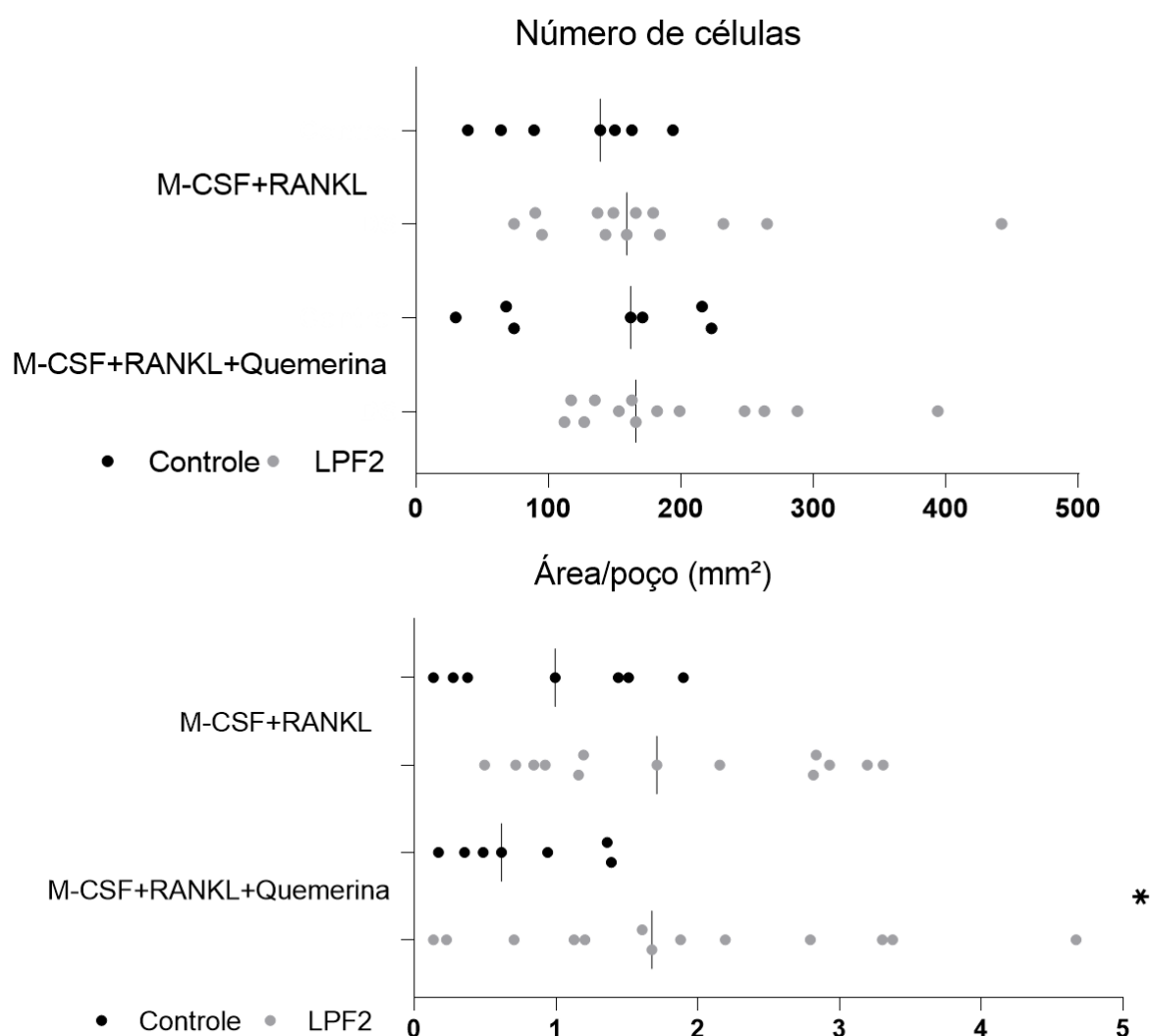
Tabela 10: Resultados da espectroscopia na coluna, tíbia esquerda e músculo sóleo do grupo LPF2 e pacientes LPF3

	LPF2 (n=16)	LPF3 – 1	LPF3 – 2
TAMO Coluna total (%)	50,0	13,4	-
TAMO Coluna saturada (%)	31,8	11,0	-
TAMO Coluna insaturada (%)	8,0	0,1	-
TAMO Tíbia total (%)	87,9	87,2	95,5
TAMO Tíbia saturada (%)	37,3	42,1	40,6
TAMO Tíbia insaturada (%)	7,2	7,4	10,2
Gordura intramiocelular (IMCL)	1245,0	907,6	915,5
Gordura extramiocelular (EMCL)	3461,2	3191,4	1753,1
Relação IMCL/EMCL	0,46	0,28	0,52

TAMO – tecido adiposo de medula óssea

Na avaliação dos grupos quanto ao número e área dos osteoclastos (em mm²), foi observada uma tendência não significativa de maior número de células no grupo LPF2 em comparação ao grupo controle nos meios estimulados por RANKL e quemerina. A área de diferenciação dos osteoclastos foi maior no grupo LPF2 quando estimulada com RANKL, embora não significativa (C=0,95 ± 0,70 versus LPF2=1,87 ± 1,04; *p*=0,05), e aumentada significativamente quando estimulada com RANKL + quemerina (C=0,76 ± 0,48 versus LPF2=1,92 ± 1,33; *p*<0,05) (Figura 12).

Figura 12: Número médio de células por poço e área de diferenciação dos osteoclastos e em controles e pacientes com lipodistrofia (LPF2).

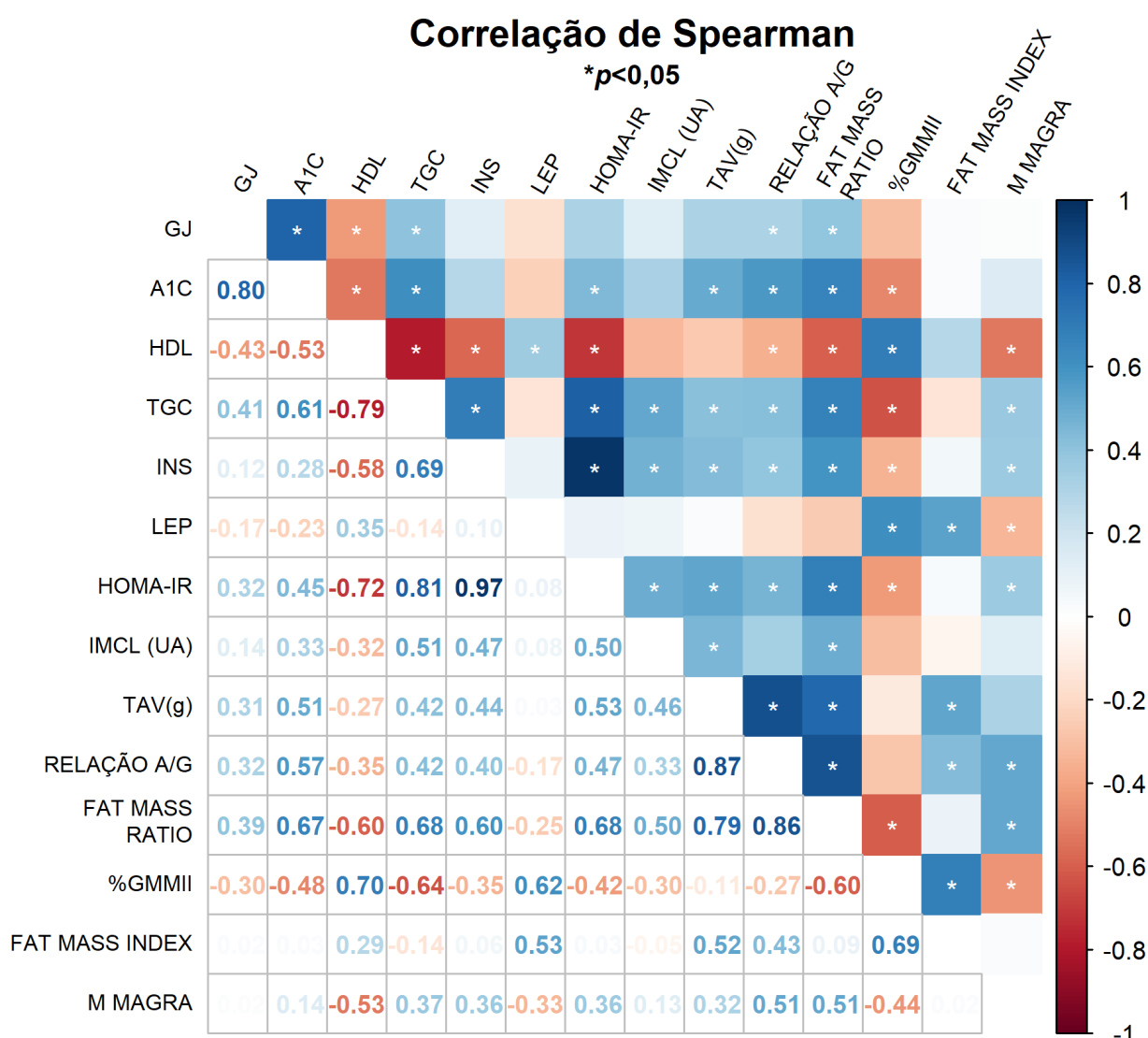


* *p*<0,05. Abreviações: M-CSF – fator estimulado de colônia de macrófagos; RANKL – ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa β. Fonte: elaborado pela autora (2023)

Variáveis bioquímicas ligadas à síndrome metabólica, como GJ, HbA1c, triglicérides e HOMA-IR correlacionaram-se positivamente entre si, e negativamente

com o HDL-colesterol. HbA1c, triglicérides, insulina e HOMA-IR associaram-se positivamente com TAV, relação androide/ginoide e FMR, enquanto o HDL-colesterol apresentou associação negativa com essas mesmas variáveis. A leptina apresentou correlação positiva com parâmetros e índices que refletem quantidade de tecido adiposo, como percentual de gordura em membro inferiores, gordura corporal total e IMG, e negativa com a massa magra e o índice FNIH (Figura 13).

Figura 13: Mapa de calor representando as correlações de Spearman entre variáveis de composição corporal e parâmetros bioquímicos.



GJ, glicemia de jejum; A1c, hemoglobina glicada; HDLc – lipoproteína de alta densidade; TGC, triglicérides; INS, insulina; LEP, leptina; HOMA-IR, Homeostase Model Assessment; IMCL, gordura intramiocelular; TAV, tecido adiposo visceral; A/G, androide/ginoide; Fat Massa Index, índice de massa gorda. Fonte: elaborado pela autora (2023)

A adipocina quemerina teve associação positiva com a insulina e o HOMA-IR, e com a adipocina leptina (Tabela 11). Não foram observadas associações entre a quemerina e vitamina D, PTH, fósforo e demais parâmetros bioquímicos (Apêndice C). A leptina apresentou uma tendência de associação positiva com colesterol total e LDL-colesterol, sem outras associações, exceto pela quemerina.

Tabela 11: Correlação entre adipocinas e variáveis bioquímicas

	<i>p</i>	<i>p</i>
Quemerina x GJ	-0,01	0,94
Quemerina x HbA1c	-0,01	0,93
Quemerina x Insulina	0,58	<0,01
Quemerina x HOMA-IR	0,52	<0,01
Quemerina x Leptina	0,46	<0,01
Leptina x GJ	-0,10	0,54
Leptina x HbA1c	-0,17	0,31
Leptina x colesterol total	0,31	0,06
Leptina x LDL-c	0,33	0,05

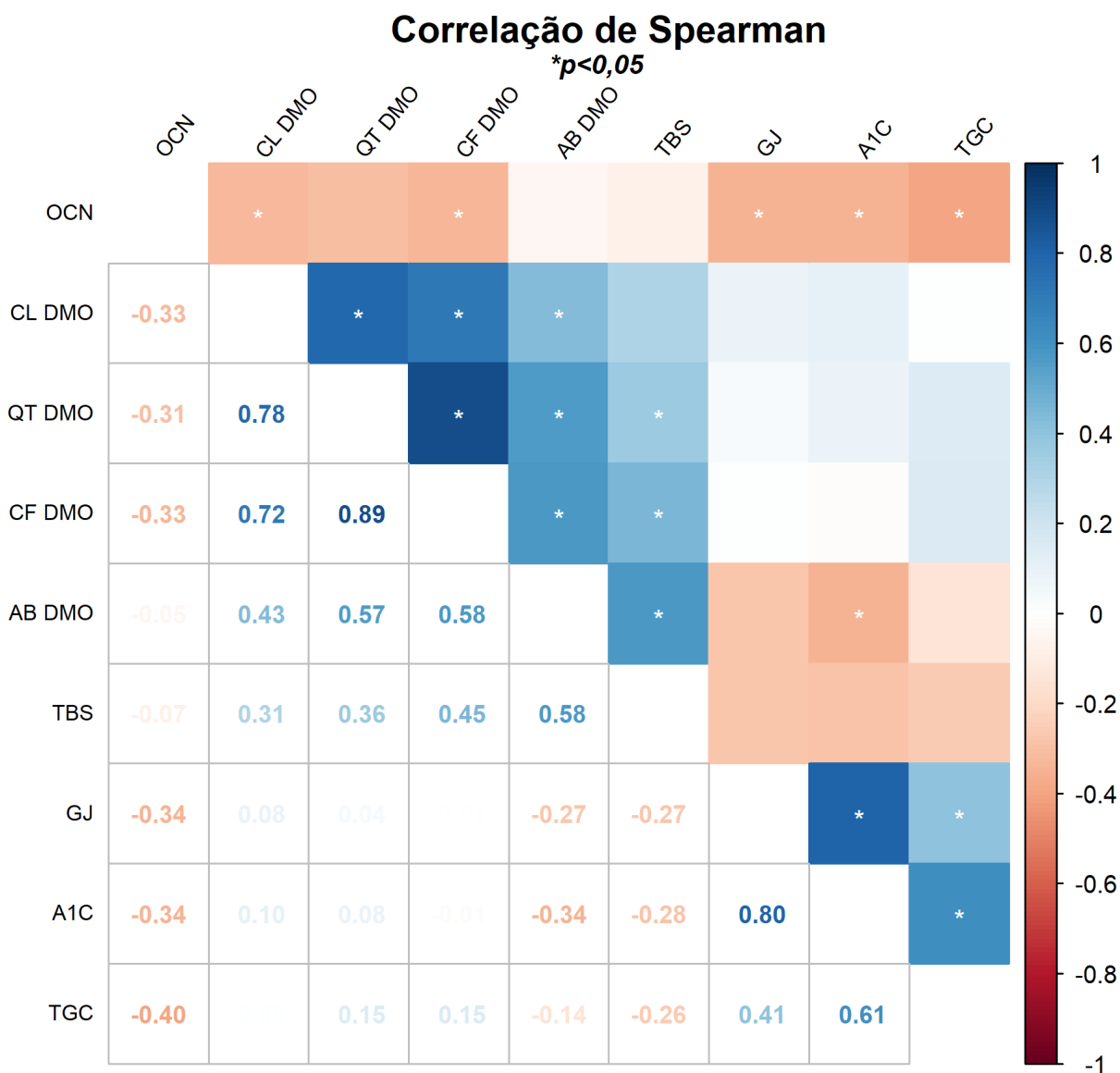
Abreviações: GJ – glicemia de jejum; HbA1c – hemoglobina glicada; HDLc – colesterol de alta densidade; HOMA-IR – Homeostase Model Assessment.

A análise entre variáveis bioquímicas e de densitometria óssea pode ser visualizada na Figura 14. Parâmetros ligados à resistência insulínica não mostraram associação negativa com a massa óssea nos sítios L1-L4 e QT. GJ apresentou associação positiva com sítio CF após regressão linear ajustada para sexo, idade, IMC e DM. No sítio rádio 33%, observamos correlação negativa com a HbA1c e a análise de regressão linear confirmou a relação negativa desse sítio com GJ e HbA1c, que não permaneceu após ajustes. HOMA-IR e insulina não apresentaram associação com a DMO nos sítios avaliados (Apêndice D).

Osteocalcina mostrou associação negativa com a GJ, HbA1c e triglicérides, mantidas após análise de regressão não ajustadas. Não se observou relação entre a osteocalcina e fosfatase alcalina, cálcio, fósforo, vitamina D ou PTH (Apêndice E). Em relação à DXA, a osteocalcina apresentou correlação negativa com a DMO nos sítios L1-L4 e CF, mantida somente em L1-L4 após a análise de regressão linear ajustada. As análises de regressão linear estão na Tabela 12. Leptina, vitamina D e PTH não

mostraram associação com parâmetros da densitometria (Apêndice F). Houve relação positiva entre a DMO de todos os sítios avaliados, exceto coluna lombar, com o TBS.

Figura 14: Mapa de calor representando as correlações de Spearman entre parâmetros bioquímicos e variáveis da densitometria.



OCN – osteocalcina; DMO – densidade mineral óssea; CL – coluna lombar; QT – quadril total; CF – colo do fêmur; AB – antebraço; TBS – escore trabecular ósseo; GJ – glicemia de jejum; HbA1c – hemoglobina glicada; TGC – triglicérides. Fonte: elaborado pela autora (2023)

Tabela 12: Resultados da regressão linear entre GJ, HbA1c, osteocalcina, leptina, densitometria e ressonância antes e após ajustes para sexo, idade, IMC e diabetes mellitus

	Sem ajuste		Com ajuste	
	β	p	β	p
GJ x DMO L1-L4	4,24	0,56	8,99	0,07
GJ x DMO CF	3,96	0,62	12,18	<0,05
GJ x DMO rádio 33%	-25,96	<0,01	-4,34	0,71
GJ x EMCL	1,49	<0,05	0,54	0,35
GJ x TAMO COL INSAT	2,68	0,11	0,35	0,81
HbA1c x DMO rádio 33%	-1,20	<0,01	-0,37	0,64
HbA1c x TAMO COL TOT	0,03	<0,05	0,01	0,10
HbA1c x TAMO COL INSAT	0,08	<0,05	0,01	0,61
HbA1c x EMCL	0,03	<0,01	0,02	<0,01
Osteocalcina x GJ	-3,99	<0,05	-1,16	0,48
Osteocalcina x HbA1c	-0,15	<0,05	-0,01	0,79
Osteocalcina x Triglicérides	-30,67	<0,05	-7,30	0,39
Osteocalcina x DMO L1-L4	-1,01	0,06	-1,04	<0,05
Osteocalcina x IMCL/EMCL	-0,12	<0,01	-0,08	0,05
Leptina x DMO L1-L4	0,36	0,42	0,001	0,82
Leptina x DMO QT	-0,08	0,92	-0,005	0,31
Leptina x DMO CF	-0,03	0,97	-0,005	0,37
Leptina x DMO rádio 33%	0,65	0,49	-0,008	0,54

Abreviações: GJ – glicemia de jejum; HbA1c – hemoglobina glicada; DMO – densidade mineral óssea; QT – quadril total; CF – colo do fêmur; TAMO – tecido adiposo de medula óssea;

Os resultados de composição corporal mostram associação positiva do peso e do IMC com a DMO nos sítios QT, CF e rádio 33%. O TAV e a relação androide/ginoide apresentaram correlação positiva com a DMO do quadril total, mantida após regressão linear não ajustada para TAV ($\beta=0,0012$; IC95: 0,004 a 0,019; $p<0,05$). Massa magra, índice de massa magra de Baumgartner e índice de massa gorda mostraram associação positiva com a DMO dos sítios QT, CF e rádio 33% (Tabela 13). A relação positiva entre massa magra e DMO de QT se manteve mesmo após regressão ajustada ($\beta=0,009$; IC95: 0,001 a 0,017; $p<0,05$). Não se observaram associações da DMO com gordura corporal total e FMR.

Tabela 13: Correlação entre a densidade mineral óssea e parâmetros de composição corporal

	ρ	p
DMO L1-L4 x Peso	0,30	0,06
DMO QT x Peso	0,47	<0,01
DMO CF x Peso	0,52	<0,01
DMO rádio 33% x Peso	0,70	<0,01
DMO L1-L4 x IMC	0,27	0,09
DMO QT x IMC	0,52	<0,01
DMO CF x IMC	0,51	<0,01
DMO rádio 33% x IMC	0,57	<0,01
DMO QT x TAV	0,46	<0,01
DMO QT x Relação A/G	0,37	<0,05
DMO QT x Massa magra	0,36	<0,05
DMO CF x Massa magra	0,35	<0,05
DMO rádio 33% x Massa magra	0,47	<0,01
DMO QT x Índice de massa magra	0,51	<0,01
DMO CF x Índice de massa magra	0,44	<0,01
DMO rádio 33% x Índice de massa magra	0,55	<0,01
DMO QT x Índice de massa gorda	0,36	<0,05
DMO CF x Índice de massa gorda	0,38	<0,05
DMO rádio 33% x Índice de massa gorda	0,48	<0,01

Abreviações: DMO – densidade mineral óssea; QT – quadril total; CF – colo do fêmur; IMC – índice de massa corporal; TAV – tecido adiposo visceral; relação A/G – relação andróide/ginoide

O TBS mostrou uma tendência de correlação negativa com a GJ e a HbA1c, confirmadas após a análise de regressão linear, mas não mantidas após ajustes (Figura 15). A leptina associou-se positivamente com o TBS ($\rho=0,35$; $p<0,05$), efeito mantido na regressão linear não ajustada. O HOMA-IR mostrou correlação negativa com o TBS na regressão linear após ajustes (Figura 16). A osteocalcina e os demais parâmetros bioquímicos analisados não mostraram relação com o TBS.

Variáveis de composição corporal ligadas à quantidade de gordura corporal, como percentual de gordura em membros inferiores ($\rho=0,63$; $p<0,01$), gordura corporal total ($\rho=0,52$; $p<0,01$) e IMG ($\rho=0,52$; $p<0,01$) mostraram associação positiva com o TBS, enquanto FMR apresentou correlação negativa ($\rho=-0,33$; $p<0,05$), todas mantidas na regressão linear ajustada (Tabela 14).

Figura 15: Gráfico de dispersão entre as variáveis glicemia de jejum, hemoglobina glicada e escore trabecular ósseo (TBS) da coluna lombar, não ajustadas para sexo, idade, IMC e DM.

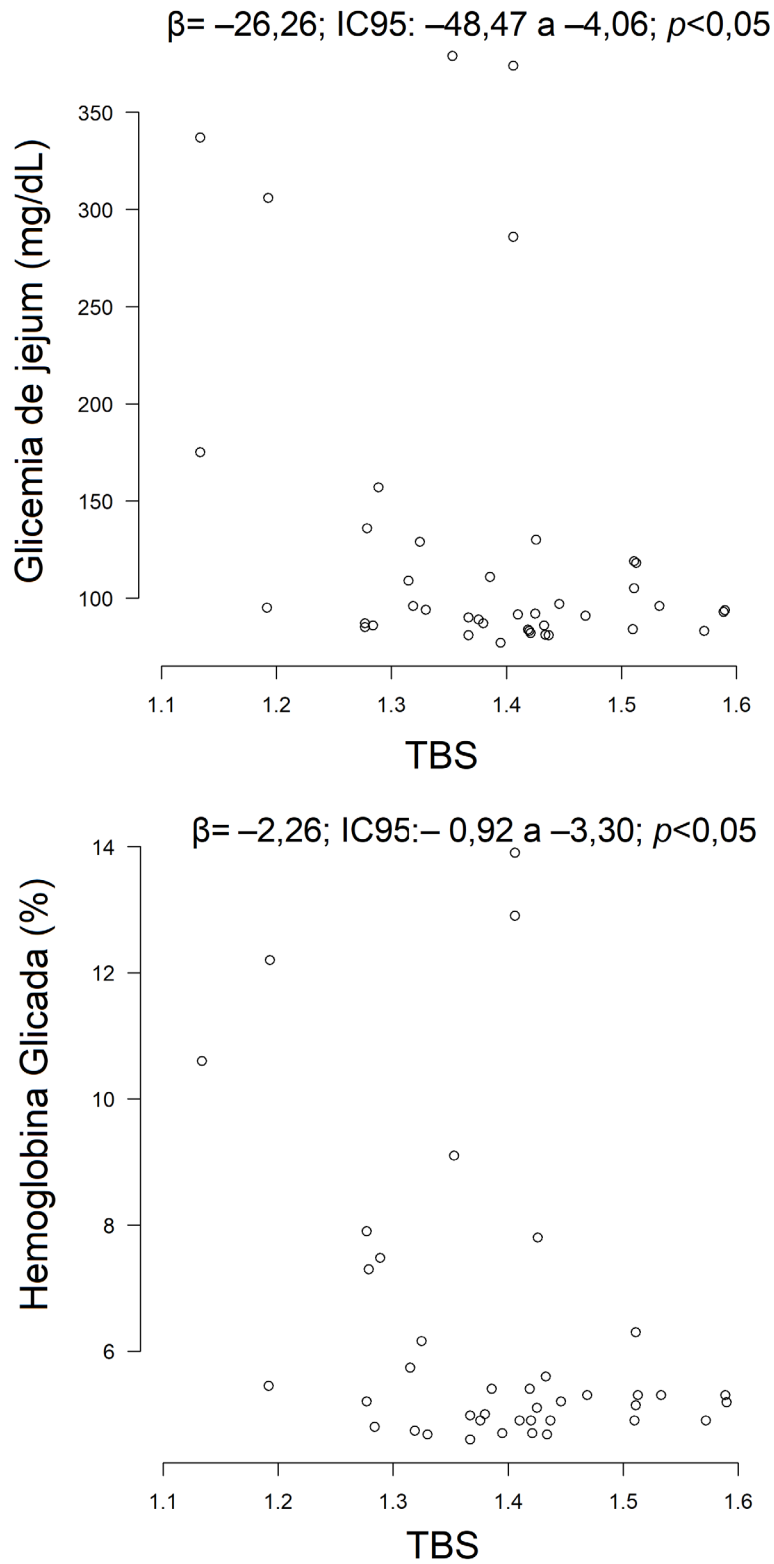
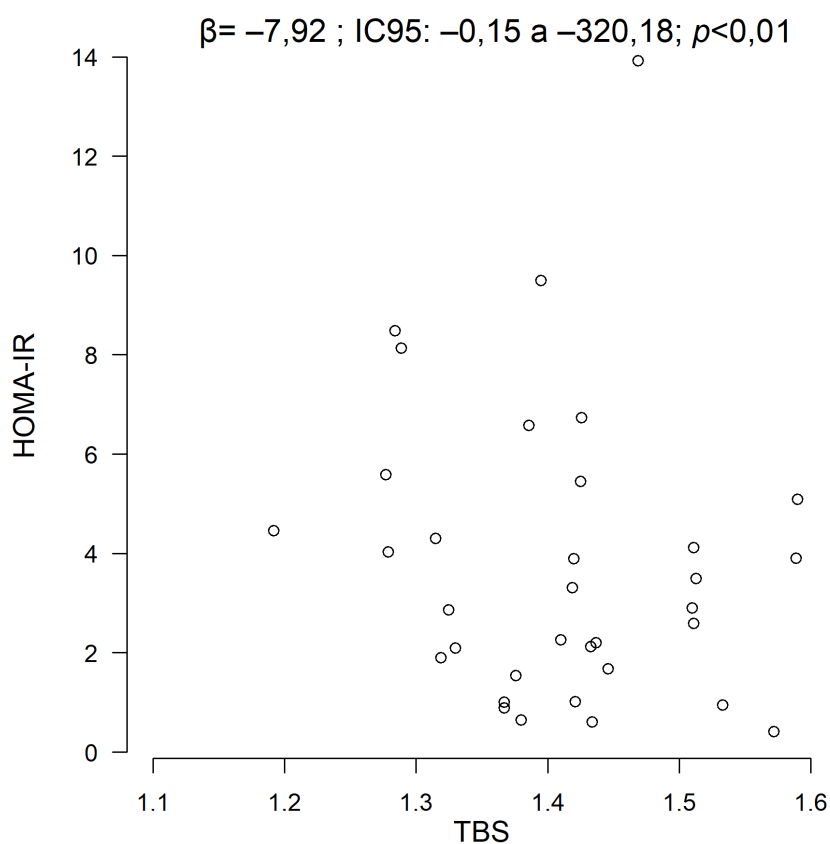


Figura 16: Gráfico de dispersão entre o índice HOMA-IR e escore trabecular ósseo (TBS) da coluna lombar, ajustado para sexo, idade, IMC e DM.



Fonte: elaborado pela autora (2023)

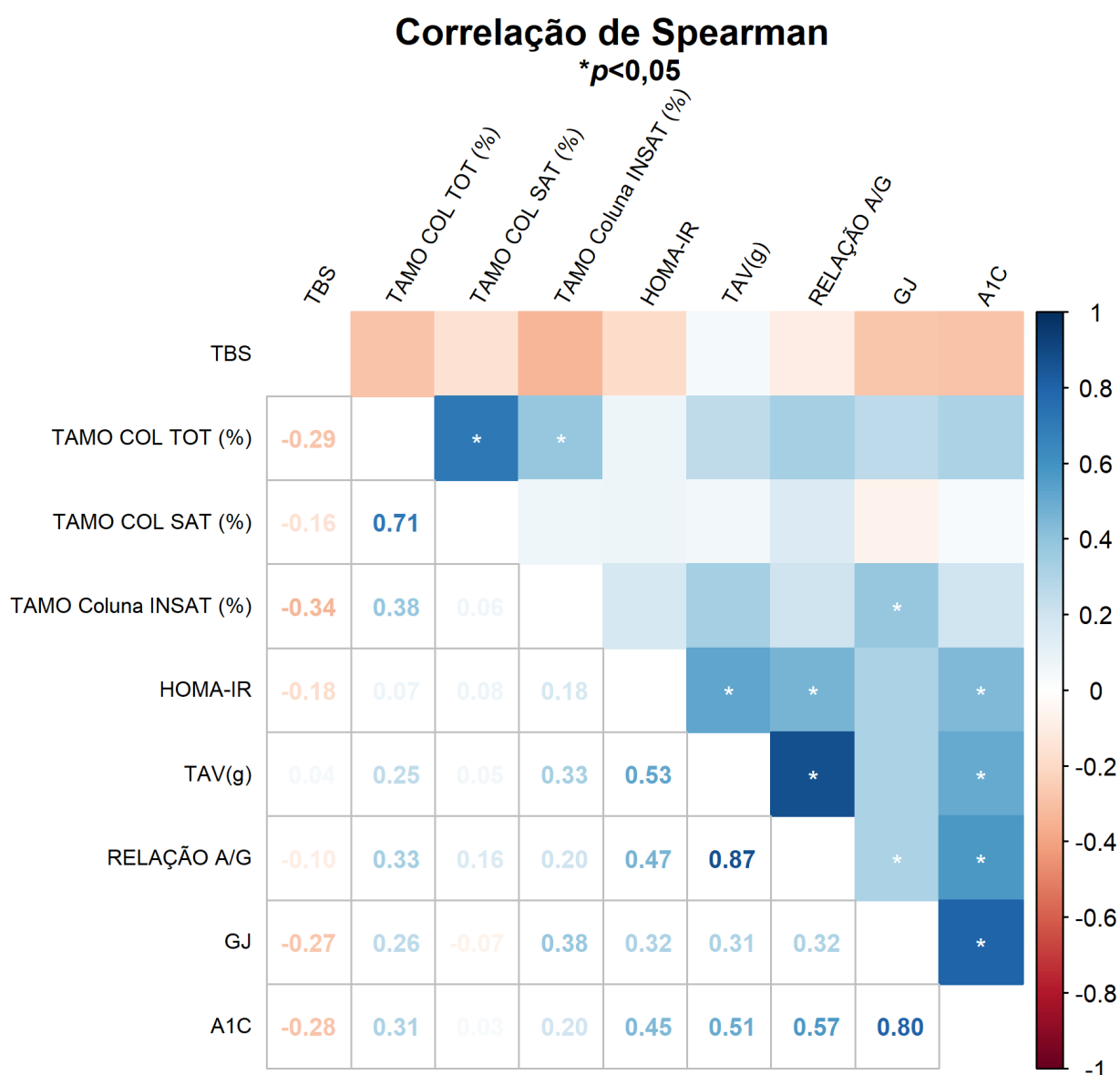
Tabela 14: Resultados da regressão linear entre variáveis bioquímicas e TBS antes e após ajustes para sexo, idade, IMC e diabetes mellitus

	Sem ajuste		Com ajuste	
	β	p	β	p
TBS x GJ	-26,26	<0,05	5,95	0,58
TBS x HbA1c	-2,26	<0,01	-0,09	0,64
TBS x HOMA-IR	-2,95	0,25	-7,92	<0,01
TBS x Leptina	0,24	<0,05	0,004	0,21
TBS x EMCL	-3577,45	<0,01	-1410,09	<0,05
TBS x Fat Mass Ratio	-0,10	<0,05	-0,14	<0,01
TBS x %GMMII	0,59	<0,01	0,48	<0,01
TBS x Gordura Corporal Total	0,67	<0,01	0,51	<0,05
TBS x Índice de Massa Gorda	0,02	<0,01	0,02	<0,05

Abreviações: TBS – escore trabecular ósseo; GJ – glicemia de jejum; HbA1c – hemoglobina glicada; HOMA-IR – Homeostase Model Assessment; EMCL – gordura extra-mioclular

A análise entre as variáveis bioquímicas e as obtidas da ressonância (Figura 17) mostrou associação positiva do TAMO total ($\beta=0,03$; IC95: 0,01 a 0,07; $p<0,05$) e do TAMO insaturado ($\beta=0,08$; IC95: 0,01 a 0,16; $p<0,05$) com HbA1c após regressão linear, mas que não se mantiveram após ajustes. A fração saturada do TAMO não mostrou associação com outras variáveis. Não foi encontrada correlação entre parâmetros bioquímicos e TAMO de tibia total e suas frações saturada e insaturada.

Figura 17: Mapa de calor representando a correlação de Spearman entre variáveis da ressonância e exames bioquímicos.



TBS – escore trabecular ósseo; TAMO – tecido adiposo de medula óssea em coluna total, frações saturada e insaturada; HOMA-IR – Homeostase Model Assessment; TAV – tecido adiposo visceral; Relação A/G – androide/ginoide; GJ – glicemia de jejum; A1c – hemoglobina glicada. Fonte: elaborado pela autora (2023)

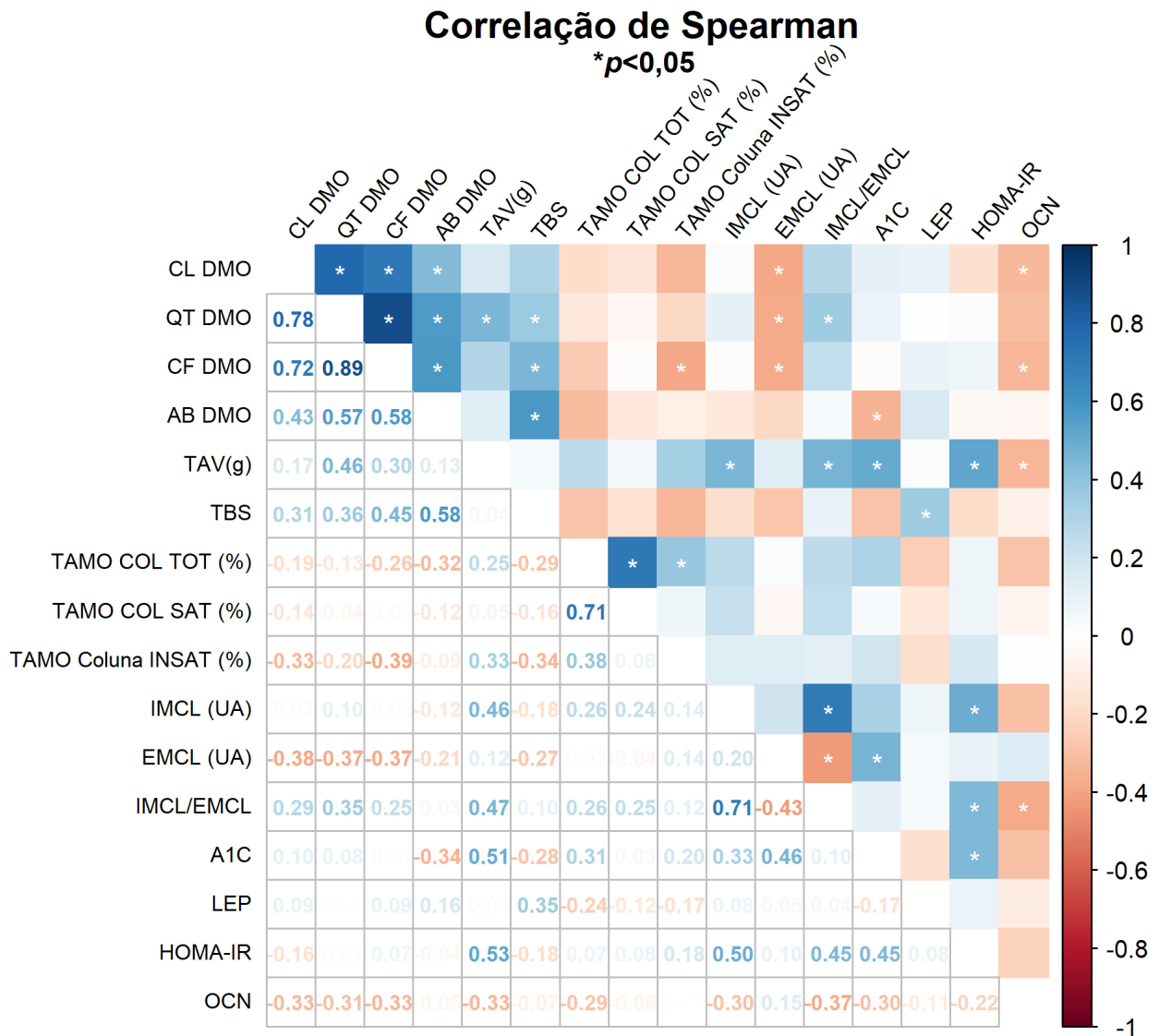
A medida de IMCL mostrou correlação positiva com triglicérides ($\rho=0,51$; $p<0,01$), insulina ($\rho=0,47$; $p<0,01$) e HOMA-IR ($\rho=0,5$; $p<0,01$), e uma tendência positiva de associação com HbA1c ($\rho=0,33$; $p=0,05$). Essa associação positiva se manteve após regressão linear somente para triglicérides e HOMA-IR (Tabela 15).

A taxa de EMCL associou-se positivamente com GJ ($\rho=0,04$; $p<0,05$) e HbA1c ($\rho=0,46$; $p<0,01$), mesmo após regressão linear, mantida para HbA1c após ajustes. A relação IMCL/EMCL mostrou correlação positiva com triglicérides ($\rho=0,37$; $p<0,05$), insulina ($\rho=0,42$; $p<0,05$) e HOMA-IR ($\rho=0,45$; $p<0,05$) e negativa com osteocalcina ($\rho=-0,37$; $p<0,05$), confirmada após regressão linear não ajustada para triglicérides, HOMA-IR e osteocalcina. A leptina sérica não mostrou associação nem com TAMO de coluna e tíbia, nem com IMCL/EMCL. As análises de regressão são descritas na Tabela 15.

O TAMO de coluna e sua fração saturada não mostraram associação com a DMO em nenhum sítio, enquanto a fração insaturada associou-se negativamente com a massa óssea do CF. O TAMO da tíbia e sua fração insaturada não mostraram relação com a DMO, e a fração saturada associou-se negativamente com a massa óssea do QT ($\rho=-0,42$; $p<0,05$), mantida após a regressão linear não ajustada (Tabela 15). Esses dados estão expostos no mapa de calor da Figura 18.

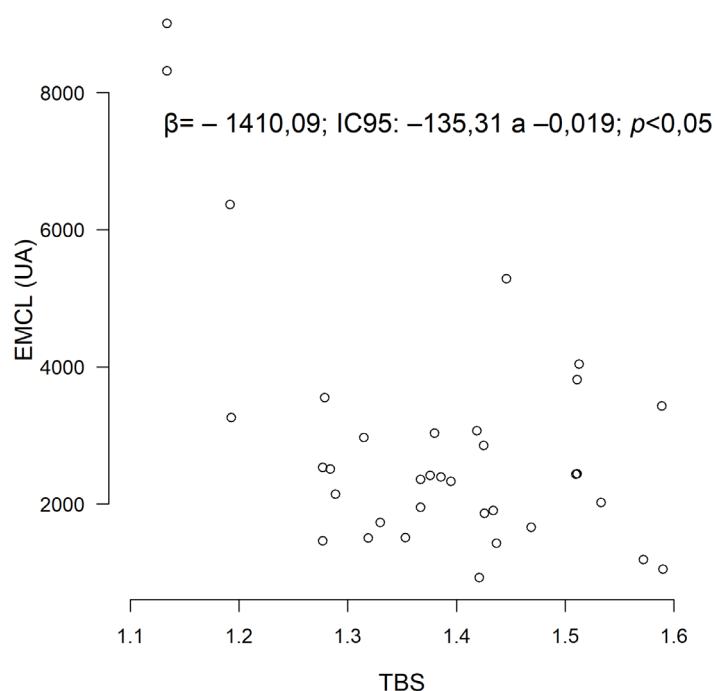
A quantidade de EMCL apresentou correlação negativa com a DMO em todos os sítios, exceto rádio 33%, associação que se manteve para todos os sítios após regressão linear e para L1-L4 e QT após ajustes (Tabela 15), e associação negativa com o TBS na análise de regressão linear, que permaneceu após ajustes (Figura 19). IMCL não exibiram associação com a massa óssea ou o TBS. A relação IMCL/EMCL apresentou associação positiva com a DMO de QT ($\rho=0,35$; $p<0,05$), mantida após regressão linear ajustada ($\beta=5,36$; IC95: 1,01 a 9,71; $p<0,05$), sem associação com os demais sítios ou o TBS.

Figura 18: Mapa de calor representando a correlação de Spearman entre parâmetros bioquímicos, de ressonância e densitometria



DMO – densidade mineral óssea; CL – coluna lombar; QT – quadril total; CF – colo do fêmur; AB – antebraço; TAV – tecido adiposo visceral; TBS – escore trabecular ósseo; TAMO – tecido adiposo de medula óssea em coluna total, frações saturada e insaturada; IMCL – intramiocelular; EMCL – extramiocelular; A1c – hemoglobina glicada; LEP – leptina; HOMA-IR – Homeostase Model Assessment; OCN – osteocalcina. Fonte: elaborado pela autora (2023)

Figura 19: Gráfico de dispersão entre a gordura extramiocelular (EMCL) e escore trabecular ósseo (TBS) da coluna lombar após ajuste para sexo, idade, IMC e DM.



Fonte: elaborado pela autora (2023)

Tabela 15: Resultados da regressão linear entre exames de bioquímica, densitometria e ressonância antes e após ajustes para sexo, idade, IMC e diabetes mellitus

	Sem ajuste		Com ajuste	
	β	p	β	p
IMCL x Tecido Adiposo Visceral	22,21	<0,05	855,69	<0,01
IMCL x HOMA-IR	0,09	<0,05	0,028	0,06
IMCL x %GMMII	-106,06	0,06	-14,28	<0,05
IMCL x triglicérides	4,76	<0,05	8,36	<0,05
EMCL x DMO L1-L4	-681,17	<0,05	-250,57	<0,05
EMCL x DMO QT	-774,27	<0,01	-300,16	<0,05
EMCL x DMO CF	-681,09	<0,05	-236,45	0,05
EMCL x DMO rádio 33%	-983,44	<0,05	-520,98	0,13
IMCL/EMCL x HOMA-IR	0,02	<0,05	0,005	0,10
IMCL/EMCL x triglicérides	1,26	<0,05	1,64	0,07
IMCL/EMCL x osteocalcina	-0,12	<0,01	-0,08	0,05
IMCL/EMCL x DMO QT	4,66	<0,05	5,36	<0,05
TAMO TIBIA SAT x DMO QT	-1,44	<0,01	-0,96	0,14
TAMO COL TOT x Tecido Adiposo Visceral	1,07	<0,05	2,79	<0,01
TAMO COL TOT x %GMMII	-6,44	<0,01	-6,72	<0,05

Abreviações: GJ – glicemia de jejum; CF – colo de fêmur; TBS – escore trabecular ósseo; EMCL – extramiocelular; IMCL – intramiocelular; TAMO – tecido adiposo medula óssea; HbA1c – hemoglobina glicada; HOMA-IR – Homeostase Model Assessment; %GMMII – gordura em membros inferiores.

Por fim, a área de osteoclastos exibiu relação negativa com a osteocalcina após estímulo com RANKL e quemerina (Tabela 16). Não foram encontradas associações entre os parâmetros da osteoclastogênese e quemerina, leptina, DMO, TBS, TAMO ou IMCL/EMCL (Apêndice G).

Tabela 16: Correlação entre a área de diferenciação de osteoclastos, adipocinas e densidade mineral óssea

	ρ	p
Área (M-CSF+RANKL) x osteocalcina	-0,41	0,07
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x osteocalcina	-0,59	<0,01
Área (M-CSF+RANKL) x quemerina	0,26	0,27
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x quemerina	0,40	0,08
Área (M-CSF+RANKL) x DMO L1-L4	0,57	<0,05
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x DMO L1-L4	0,40	0,08
Área (M-CSF+RANKL) x Z-score L1-L4	0,53	<0,05
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x Z-score L1-L4	0,40	0,08
Área (M-CSF+RANKL) x DMO quadril total	0,55	<0,05
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x DMO quadril	0,46	<0,05
Área (M-CSF+RANKL) x Z-score quadril total	0,49	<0,05
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x Z-score quadril	0,37	0,11

Abreviações: M-CSF – fator estimulador de colônia de macrófagos; RANK-L – ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa β

6. Discussão

O aumento progressivo na prevalência de síndrome metabólica, DM e obesidade é um dos desafios atuais na saúde pública mundial. A importância dessas doenças metabólicas se deve em grande parte à forte associação com outras comorbidades, em particular às doenças cardiovasculares. Entretanto, até recentemente, existia uma impressão de que obesidade e DM2 tinham efeito protetor sobre a massa óssea. Infelizmente, nas últimas duas décadas, diversas evidências passaram a indicar que aquela era uma hipótese equivocada. Na realidade, diversos estudos mostram que obesidade não protege contra fraturas e que DM2 é fator de risco para ocorrência de fraturas. O tecido adiposo e a alteração funcional na sensibilidade à insulina estão intimamente ligadas às alterações metabólicas e comorbidades associadas à obesidade e ao DM2. Porém a relação do tecido adiposo com o tecido ósseo ainda se mantém pouco esclarecida. O presente estudo buscou compreender melhor essas associações por meio de um grupo de pacientes com diagnóstico de lipodistrofia parcial familiar, uma doença rara, que representa um modelo de ocorrência natural e precoce de resistência insulínica, diabetes mellitus (DM) e alteração da distribuição de gordura corporal.

A prevalência de DM2 na população brasileira seguiu a tendência global de crescimento nos últimos anos; dados da Pesquisa Nacional de Saúde observaram aumento da prevalência de 6,2% em 2013, para 7,7% em 2019. Estima-se que cerca de 12,3 milhões de brasileiros convivam com a doença no Brasil atualmente. Em 2019, 47,7% dos pacientes com DM2 tinham 45 anos ou mais, e 57,9% eram indivíduos com sobrepeso ou obesidade (dos Reis *et al.*, 2022). No grupo LPF, o fardo do DM é muito maior, com prevalência de 75% na presente amostra, faixa etária média dos pacientes abaixo dos 45 anos e surgimento da doença entre a terceira e quarta década de vida. Uma revisão de literatura recente relatou que a prevalência de DM na LPF2 variou de 28% a 51% (Araújo-Vilar *et al.*, 2008; Haque *et al.*, 2003; Treiber *et al.*, 2023), sendo que essa prevalência sobe para 54% se considerarmos somente o sexo feminino. A prevalência elevada de DM na presente amostra se assemelha à encontrada em uma casuística de 55 pacientes, com 94,6% de presença de diabetes (Koo *et al.*, 2021), assim como a alta prevalência de uso de insulina (maior que 50%), descrita também por outros autores (Diker-Cohen *et al.*, 2015). A origem dos pacientes, um ambulatório de diabetes em um serviço de atenção terciária, pode justificar a maior prevalência

observada nesta coorte. Aqueles que ainda não desenvolveram a doença são parentes próximos, diagnosticados por busca ativa, ou seguem devido a outras alterações metabólicas, como dislipidemia.

Neste grupo especial de pessoas, as alterações no perfil lipídico são ainda mais prevalentes que no DM, variando de 48% a 100% na literatura (Koo *et al.*, 2021; Treiber *et al.*, 2023; Vasandani *et al.*, 2022). Os dados da presente casuística dão suporte aos estudos anteriores, mostrando que a hipertrigliceridemia e concentrações séricas baixas de HDLc são altamente prevalentes nesta situação, reforçando o padrão encontrado na síndrome metabólica.

O elo entre a homeostase de carboidratos e lipídios e o metabolismo ósseo tem sido investigado. Não por acaso, moléculas originadas em células ósseas foram apontadas como mediadoras dessa interação, entre elas a osteocalcina. Secretada por osteoblastos, ela apresenta duas formas: carboxilada e descarboxilada, a última estudada por suas possíveis funções pancreáticas e no tecido adiposo, respectivamente, aumentando a secreção e sensibilidade à insulina e a secreção de adiponectina. Estudos com modelos murinos *Osteocalcina*^{-/-} mostraram que esses animais apresentaram redução de tolerância à glicose, resistência insulínica e obesidade (Lee *et al.*, 2007). Na mesma linha, Ferron *et al.* (2012) observaram que a infusão de osteocalcina em camundongos selvagens aumentou de forma dose-dependente a sensibilidade periférica à insulina e causou queda dos estoques de gordura. Em humanos, estudos demonstraram associação negativa entre osteocalcina e glicemia de jejum (Zanatta *et al.*, 2018), bem como com HbA1c, insulina, HOMA-IR e gordura corporal total (Kanazawa *et al.*, 2009; Pittas *et al.*, 2009). A maior parte dos estudos clínicos é baseada em estudos observacionais; entretanto Sabek e colaboradores mostraram por meio de ensaio *in vitro* que células β -pancreáticas extraídas de humanos melhoram a secreção de insulina quando estimuladas por osteocalcina descarboxilada (Sabek *et al.*, 2015).

O presente estudo encontrou redução significativa da osteocalcina no grupo LPF em comparação ao controle, ratificando os achados de osteocalcina reduzida em pacientes com DM e síndrome metabólica. Além disso, foi observada relação negativa da osteocalcina com GJ, HbA1c, triglicérides. Esses dados vão ao encontro dos resultados descritos anteriormente que sugerem um possível papel regulador metabólico deste peptídeo de fonte óssea. Outro aspecto que merece ser salientado

é que a osteocalcina teve relação negativa com a massa óssea da coluna lombar. Resultado semelhante foi observado em estudo anterior no DM2 (de Araújo *et al.*, 2017). Em conjunto, estes resultados fortalecem o conceito de regulação mútua entre metabolismo ósseo e energético.

Em relação ao metabolismo mineral ósseo, as concentrações séricas de 25(OH)D estavam reduzidas nos pacientes LPF, com valores médios abaixo de 20 ng/mL, caracterizando deficiência. Poucos estudos avaliaram os valores de 25(OH)D em pacientes com LPF. Christensen *et al.* (2014) observaram deficiência de 25(OH)D (média=15,4 ng/mL) em 31 pacientes com LGC, sem alteração nos valores de PTH, cálcio e fósforo, enquanto Diker-Cohen *et al.* (2015) descreveram valores maiores em pacientes com LPF comparados a pacientes com LGC (LPF=23,0 ng/mL versus LGC=16 ng/mL) e sugeriram que esse achado é compatível com a redução mais acentuada dos estoques de gordura nas formas generalizadas, o que comprometeria as concentrações de vitaminas lipossolúveis, como vitamina D, A e E. Entretanto, outros trabalhos não mostraram deficiência, mesmo em pacientes com LGC (Lima *et al.*, 2016a; 2017) e estudos observacionais usualmente mostram uma relação inversa entre os valores de 25(OH)D e a massa gorda total (McGill *et al.*, 2008). A hipótese mais aceita é que o excesso de tecido adiposo, como na obesidade, levaria ao sequestro de 25(OH)D na gordura, reduzindo suas concentrações séricas.

O presente trabalho não corrobora essa hipótese e de certa forma estimula a realização de mais estudos sobre o papel do tecido adiposo na hipovitaminose D. Os resultados encontrados neste trabalho estão em concordância com estudos observacionais que sugerem que a 25(OH)D é um marcador de doença, e encontra-se reduzida em doenças inflamatórias e sistêmicas, como o DM2 (de Paula; Rosen, 2012). O grupo LPF também apresentou valores circulatórios normais de PTH, em concordância com o parecer do Instituto de Medicina (IOM) e diversos estudos que apontaram que a relação negativa entre 25(OH)D e PTH só é detectada quando os valores de 25(OH)D estão abaixo de 15 ng/mL (Rosen *et al.*, 2012).

O presente trabalho observou associação positiva na regressão ajustada entre GJ e DMO de CF, e ausência de associação negativa desses marcadores e do índice HOMA-IR com a DMO dos sítios L1-L4 e QT. Vale chamar atenção que no presente estudo o grupo de pacientes apresentava mau controle glicêmico, mostrando que o estado de grave resistência insulínica não compromete quantitativamente a massa

óssea. Em concordância com esses dados, estudos observacionais e meta-análises descrevem DMO preservada ou aumentada na resistência insulínica e no DM2 (Bonds *et al.*, 2006; de Araújo; Moreira; De Paula, 2022; Ma *et al.*, 2012;). Zhou *et al.* (2021) analisaram o banco de dados do National Health Examination and Nutrition Survey (NHANES) e usaram randomização mendeliana para examinar a associação da glicemia de jejum, insulina de jejum e resistência insulínica com a DMO. Os autores observaram que a GJ se associou positivamente com a DMO de QT, CF e L1, enquanto que a insulina, RI e DM2 associaram-se positivamente com a DMO do QT. Já Gu *et al.* (2023) avaliaram a correlação da RI com a DMO por meio de três índices: HOMA-IR, triglicérides-glicose (TyG) e escore metabólico para RI (METS-IR), em 91 pacientes com osteoporose comparados a 119 pacientes controle, todas do sexo feminino. De forma semelhante, eles observaram uma associação positiva de RI, em particular do índice METS-IR, com a DMO.

O grupo de pacientes LPF2 neste trabalho apresentou DMO não inferior ao grupo controle nos sítios ósseos usualmente utilizados para diagnóstico de osteoporose, corroborando os dados da literatura (de Araújo *et al.*, 2020; Compston, 2018; Conte; Epstein; Napoli, 2018). No entanto, no rádio 33%, local rico em osso cortical, a DMO foi significativamente menor no grupo com lipodistrofia. Patsch *et al.* (2013b) discutem o papel da porosidade cortical na doença óssea associada ao diabetes e seu impacto na ocorrência de fraturas. A porosidade cortical foi descrita pela primeira vez por meio de tomografia computadorizada periférica de alta resolução (HR-pQCT) em pacientes com DM2 (Burghardt *et al.*, 2010) e associada a fraturas em mulheres diabéticas e pacientes DM2 com complicações microvasculares (Shanbhogue *et al.*, 2016). Embora o Z-score no grupo LPF2 não configure baixa massa óssea, a DMO estava reduzida em 9,8% em relação ao grupo controle (0,080 g/cm²), acima da mínima variação significativa do serviço de radiologia para esse sítio (MVS=0,033 g/cm²), o que pode impactar na ocorrência futura de fraturas nesses pacientes, visto que o punho já foi descrito como local de risco aumentado de fratura em pacientes DM2 em dois estudos (Moayeri *et al.*, 2017; Vestergaard *et al.*, 2007).

Os achados descritos no presente trabalho ajudam a caracterizar melhor o fenótipo ósseo em situação de resistência insulínica. Os dados dão suporte a estudos anteriores que mostram preservação de massa óssea em coluna lombar e fêmur proximal de pacientes DM2 (de Araújo *et al.*, 2017; Napoli *et al.*, 2019). Além disso,

nesta situação de grave resistência insulínica e diabetes mellitus precoce, a densitometria óssea em sítio com predomínio de osso cortical foi capaz de detectar prejuízo de massa óssea. O sítio rádio 33% foi o único a apresentar correlação negativa com glicemia de jejum e HbA1c, assim como descrito por Majima *et al.* (2005) em um grupo de 145 pacientes japoneses com DM2. Esse achado, aliado à observação de associação positiva de GJ e HbA1c para outros sítios, sugere que há um impacto diferente do DM2 conforme o tipo de osso, cortical ou trabecular. Esses dados encorajam a realização de estudo para avaliar o valor preditivo de fratura na estimativa de DMO no rádio 33% no diabetes mellitus e na LPF.

O impacto positivo do peso, e por conseguinte da obesidade, sobre a massa óssea é bem reconhecido na literatura e diversos estudos mostram existir associação entre aumento do IMC com a DMO (Khosla *et al.*, 1996; Morin; Leslie, 2009; Sukumar *et al.*, 2011). O presente estudo também observou correlação positiva do peso e do IMC com a DMO de QT, CF e rádio 33%. O mecanismo mais óbvio é que o efeito mecânico do peso sobre o esqueleto seja percebido pelos osteócitos, que atuam como mecanorreceptores e traduzem esses estímulos aos osteoblastos, promovendo formação óssea (Vezeridis *et al.*, 2006). Ao contrário, o desuso, a imobilização prolongada, pouca carga e ausência de gravidade contribuem para a apoptose dessas células, causando perda de massa óssea (Aguirre *et al.*, 2006). Em contrapartida, outros fatores também devem participar ativamente nesse processo, como o tecido adiposo e as adipocinas.

Com o avanço do conhecimento sobre a função endócrina do tecido adiposo e o estado inflamatório crônico da obesidade, estudos mais recentes sugerem que determinados tipos de gordura parecem exercer efeitos deletérios sobre a DMO. Bredella *et al.* (2011) e Sharma *et al.* (2020) relataram associação negativa do TAV com a DMO, enquanto Walowski *et al.* (2023) descreveram que o IMG, o tecido adiposo subcutâneo e o TAV são preditores e fatores de risco para baixa massa óssea. Contrário a esses achados, este estudo não observou associação negativa do TAV, gordura corporal total ou FMR com a DMO, e o IMG apresentou relação positiva com a DMO de QT, CF e rádio 33%. De Araújo *et al.* (2020) também não observaram relação negativa entre TAV e DMO em estudo transversal com 56 pacientes da população geral. Esses resultados expõem a dificuldade de se distinguir os efeitos atribuídos exclusivamente ao tecido adiposo sobre o osso usando somente um exame

que avalia a DMO areal. A interposição de partes moles sobre os sítios avaliados, em especial o tecido gorduroso visceral em tronco sobre a coluna, também poderia interferir na avaliação pela densitometria na DMO (Yu *et al.*, 2017), porém não existe uma forma de correção padronizada na literatura.

A concentração sérica da adipocina leptina é proporcional à quantidade de depósitos de gordura no organismo. Ela sinaliza saciedade ao SNC (Myers *et al.*, 2008) e tem papel tanto na regulação do peso corporal, quanto na homeostase de energia e controle do apetite (Schwartz *et al.*, 2000). A concentração sérica de leptina nesta amostra de pacientes foi reduzida em relação ao grupo controle, em consonância com a literatura, que tem descrições de valores entre 2,3 e 16,4 ng/mL nas lipodistrofias parciais (Araújo-Vilar *et al.*, 2008; Brown; Gorden, 2015; Hegele *et al.*, 2000; Koo *et al.*, 2021). Houve também, como esperado, correlação positiva da leptina com o índice de massa gorda, percentual de gordura em membros inferiores e gordura corporal total, todos reduzidos no grupo LPF2. Na LGC, os valores de leptina são ainda mais baixos, entre 0,9 e 1,1 ng/mL (Christensen *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2016a, 2016b), refletindo a ausência quase total de tecido adiposo nesses pacientes. Entretanto, não existem diretrizes que estabeleçam valores de referência para a leptina na LPF, ela não é considerada critério diagnóstico para as lipodistrofias e os pacientes podem apresentar valores baixos ou mesmo normais dessa adipocina.

Este estudo não encontrou correlação entre leptina e DMO. Na literatura, existem relatos divergentes da associação entre leptina e osso em humanos, com trabalhos descrevendo ausência de relação (Ibrahim *et al.*, 2011), associação negativa (Walowski *et al.*, 2023), enquanto outros mostram associação positiva (Sienkiewicz *et al.*, 2011). Outra característica da obesidade é quadro de inflamação crônica. Embora marcadores inflamatórios específicos não tenham sido avaliados no presente estudo, trabalho prévio realizado com amostra desse grupo de pacientes por Resende *et al.* (2019) mostrou elevação de citocinas (IL-6, TNF α , IL1- β); no entanto, como já descrito, a DMO não parece sofrer impacto negativo do ambiente inflamatório da síndrome metabólica.

A adipocina quemerina é altamente expressa no TAB e estudos em humanos revelaram associação positiva entre concentrações séricas de quemerina e IMC, relação cintura-quadril, circunferência abdominal, obesidade e TAB (Bozaoglu *et al.*, 2007; Goralski *et al.*, 2007). Estudos pré-clínicos realizados por Muruganandan *et al.*

(2011, 2017) mostraram que a quemerina exerce efeito sobre as células mesenquimais do TAMO, favorecendo a expansão de adipócitos neste sítio. Além disso, foi observada influência positiva da quemerina na diferenciação de células-tronco hematopoiéticas em osteoclastos e maior reabsorção óssea por ativação osteoclástica, revertida após o uso de antagonistas do receptor da quemerina (Muruganandan et al., 2013). No presente estudo, pacientes com LPF2 apresentaram maior diferenciação de monócitos obtidos do sangue periférico em comparação aos controles, efeito observado indiretamente na maior área de diferenciação osteoclástica estimulada por quemerina *in vitro*, e correlação positiva entre a área de osteoclastos e a DMO de L1-L4 e QT. Entretanto, não foram encontradas diferenças nos valores séricos de quemerina entre pacientes LPF2 e controles. Estes resultados provavelmente refletem uma consequência do estado inflamatório crônico decorrente da resistência insulínica presente nas lipodistrofias. Possivelmente o ambiente inflamatório periférico tem influência na diferenciação dos monócitos em osteoclastos *in vitro*, no sangue periférico. No entanto, é necessário pontuar que a osteocalcina está reduzida nos pacientes LPF2, sugerindo baixo turnover ósseo e indicando que as culturas de osteoclastos a partir de monócitos do sangue periférico podem não refletir a osteoclastogênese no microambiente ósseo.

A obesidade aumenta o risco de quedas e fraturas, particularmente em extremidades, com algum efeito protetor residual no quadril, possivelmente pela presença de coxim de gordura local (De Laet *et al.*, 2005). Esse efeito “paradoxal” pode ser devido a diferenças na composição corporal envolvendo massa magra e massa gorda. Khosla *et al.* (1996) descreveram, em uma coorte de 351 mulheres pré e pós-menopausa (peso pré-menopausa $69,2 \pm 16,6$ kg versus peso pós-menopausa $67,4 \pm 13,4$ kg) entre 34 e 94 anos, que tanto a massa magra quanto a massa gorda associavam-se positivamente com o conteúdo mineral ósseo, sendo a primeira mais relacionada a L1-L4 e rádio 33%, e a segunda ao QT. Pacientes obesos apresentam aumento tanto de massa muscular, quanto de tecido adiposo, com mudanças somente nas proporções de cada uma; por isso, exceto na obesidade sarcopênica, é desafiador separar os efeitos do peso corporal como um todo dos efeitos exercidos por cada tipo de tecido (Reid, 2010).

Recomendações para atividade física e fortalecimento muscular fazem parte do algoritmo de prevenção e tratamento não medicamentoso da osteoporose (Pedro;

Plapler; Szejnfeld, 2021), pois o músculo exerce sabidamente efeito de carga sobre o esqueleto. Zhao *et al.* (2007b) observaram em indivíduos caucasianos e chineses uma correlação positiva entre massa magra e DMO, mesmo após ajuste para peso em L1-L4 e fêmur proximal. Kim *et al.* (2017) descreveram que a massa magra apendicular se associava a redução do risco de osteoporose especialmente nos sítios QT e CF. Da mesma forma, Walowski *et al.* (2023) observaram correlação positiva entre massa muscular e DMO. Além disso, esses últimos autores avaliaram o perfil sérico de irisina e miostatina. Eles não encontraram correlação entre as miocinas e a massa óssea. O presente estudo observou relação positiva entre a massa magra e o IMM (Baumgartner) com a DMO em QT, CF e rádio 33%. A associação entre massa magra e massa óssea do QT se manteve positiva após ajustes de confundidores. Apesar do grupo LPF não apresentar diferença na massa magra em relação ao grupo controle, o padrão de hipertrofia muscular observada nas lipodistrofias pode ser um dos fatores que contribui para a massa óssea preservada nestes pacientes.

A DMO avaliada pela densitometria tem, como exposto, aplicação limitada em pacientes com diabetes mellitus, pois as alterações metabólicas da doença não afetam quantitativamente a massa óssea. Apesar disso, o DM2 eleva o risco de fratura (Epstein *et al.*, 2012; Ferrari *et al.*, 2018). Diversos estudos mostram que o TBS, método que permite a análise da microarquitetura óssea, é capaz de identificar alterações ósseas no DM2. No contexto do DM2, existem estudos clínicos utilizando TBS há pelo menos uma década. Na coorte de Manitoba, com cerca de 30 mil mulheres de 50 anos ou mais, foi observado que o TBS era um fator de risco independente para fratura em pacientes com diabetes (Leslie *et al.*, 2013). O TBS foi menor em homens e mulheres com diabetes comparados a controles, e teve correlação negativa com HbA1c, GJ, insulina e HOMA-IR, e correlação positiva com triglicérides em mais de 2500 pacientes acima dos 50 anos (Kim *et al.*, 2015). Além disso, em um trabalho que comparou DMO e TBS entre controles e um primeiro grupo de pacientes com DM2, outro grupo de pacientes em uso de glicocorticoides e um grupo de pacientes com DM2 em uso de glicocorticoides, o TBS apresentou melhor desempenho que a DMO em discriminar os exames entre controles e pacientes dos demais grupos (Xue *et al.*, 2018). Já Batista *et al.* (2019) verificaram que o TBS é capaz de discriminar um gradiente de alterações ósseas na obesidade primária da

secundária à doença de Cushing. Desta forma, o TBS vem sendo considerado como uma ferramenta útil para avaliação de risco de fratura nesta condição.

Existe escassez de dados sobre TBS no contexto das lipodistrofias. Lima *et al.* (2017) relataram que em 11 pacientes com LGC, a média de TBS foi $1,402 \pm 0,106$, e apenas dois pacientes apresentavam TBS menor que 1,310, porém não houve grupo controle nesse trabalho. Não foram encontrados dados sobre TBS em pacientes com LPF2 na literatura, e este é o primeiro estudo que detalha a qualidade óssea desses pacientes. No presente trabalho, o TBS foi significativamente menor no grupo LPF2 comparado ao controle e, na média, considerado como risco intermediário de fratura (McCloskey *et al.*, 2015). Entre os voluntários com LPF, mais de 60% apresentaram microarquitetura degradada ou parcialmente degradada (Cormier; Lamy; Poriau, 2012). No presente estudo, a ocorrência de fraturas não foi avaliada, há de se considerar o pequeno número amostral e a baixa faixa etária do grupo avaliado.

Outro ponto a ser destacado é a correlação positiva, descrita em trabalhos anteriores, entre TBS e DMO volumétrica cortical e espessura cortical do rádio e da tíbia, avaliados por HR-pQCT, reforçando o papel do TBS na ampla avaliação do tecido ósseo (Silva *et al.*, 2013). Esse achado vai ao encontro dos resultados do presente estudo, em que se observou prejuízo de massa óssea no rádio 33%, sítio em que predomina osso cortical. No entanto, são necessários mais estudos para avaliar a associação entre TBS e DMO do rádio 33%, e em particular, é necessário estabelecer seu valor como preditor de fratura nessa condição.

Foi observado neste trabalho que o TBS teve relação negativa com fatores de risco metabólico, já que tanto GJ quanto HbA1c associaram-se negativamente com TBS nos modelos não ajustados, e com HOMA-IR após ajustes. Estes achados estão em concordância com dados da literatura. Kim *et al.* (2015) e Iki *et al.* (2017) descreveram associação negativa entre GJ, HbA1c e HOMA-IR com TBS mesmo após ajuste para idade e IMC; Jackuliak *et al.* (2019) descreveram que, além da relação negativa de TBS com GJ e HbA1c, o mau controle glicêmico tinha o maior peso sobre este efeito, e a HbA1c foi a variável com maior efeito sobre o TBS.

A resistência insulínica é o aspecto fisiopatológico principal do DM2 e a característica desencadeadora de diversas alterações metabólicas e teciduais na LPF2. A presença de associação negativa de HOMA-IR com TBS corrobora as

alterações na microarquitetura óssea do DM2 (Kim *et al.*, 2015). Enquanto a maior parte dos trabalhos avaliou pacientes acima de 50 anos ou mulheres na menopausa, neste estudo, mesmo em um grupo formado por indivíduos LPF jovens (idade média = $39,5 \pm 10,6$ anos), foi observado que essas alterações de qualidade óssea já estão presentes. Em mulheres com diabetes na menopausa, o prejuízo do TBS foi maior antes dos 65 anos do que em mulheres mais idosas (Holloway *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2015). Isso sugere que o TBS é capaz de detectar alterações na qualidade óssea em pessoas com DM2, em particular nas pessoas mais jovens (Dufour *et al.*, 2013).

No presente trabalho, o TBS apresentou associação positiva com três parâmetros de adiposidade corporal: gordura corporal total, percentual de gordura em membros inferiores (%GMMII) e IMG, e associação negativa com FMR, todas mantidas na regressão linear após ajustes. A variação na distribuição e concentração seletiva do tecido adiposo pode explicar as influências divergentes no TBS. O FMR reflete maior acúmulo de gordura na região de tronco, onde predomina adiposidade visceral, metabolicamente pior que a gordura acumulada na região gluteofemoral, refletida pelo %GMMII, área com menos RI. Dessa forma, o local de armazenamento de gordura pode impactar negativamente na qualidade óssea, conceito reforçado por Moon *et al.* (2020), que observaram melhora no TBS após redução da gordura visceral em pacientes DM2. Outro aspecto a ser considerado é a interferência do aumento de partes moles na região abdominal sobre a avaliação do TBS, especialmente em pacientes com DM2, que possuem aumento de adiposidade visceral (Palomo *et al.*, 2020). Esse fator, no entanto, é minimizado, pois o software do TBS apresenta correção para IMC. Além disso, Messina *et al.* (2018) relataram que a reprodutibilidade do TBS não é afetada com aumentos de até 6cm de espessura de partes moles.

Como pode ser observado, os mecanismos que contribuem para a doença óssea no diabetes são diversos, e um foco de interesse crescente é o papel do TAMO e sua influência sobre o esqueleto. De modo geral, o aumento do TAMO está associado à baixa massa óssea e osteoporose (Griffith *et al.*, 2005; Meunier *et al.*, 1971). Mulheres idosas com fraturas vertebrais apresentam maior adiposidade de medula óssea e menor DMO volumétrica trabecular em L1-L4, QT e CF, mas sem alteração da DMO cortical (Schwartz *et al.*, 2013). Além da relação negativa entre TAMO e DMO, a composição da adiposidade de medula também parece exercer algum grau de influência. Há evidências de que o processo natural de envelhecimento

resulte em redução dos lipídios insaturados no TAMO (Yeung *et al.*, 2005). Outros estudos mostram que os lipídios saturados se associaram a menor DMO (Bredella *et al.*, 2014) e a piores desfechos na massa óssea, incluindo fraturas vertebrais (Woods *et al.*, 2022).

Diversos estudos não observaram diferenças na quantidade de TAMO entre pacientes com DM2, mas essas pacientes apresentavam menor fração insaturada, maior fração saturada, associação positiva do TAMO com HbA1c e negativa com a DMO volumétrica por HR-pQCT (Baum *et al.*, 2012; Patsch *et al.*, 2013a). Em estudo realizado por nosso grupo também não houve diferença quantitativa na taxa de TAMO entre indivíduos controles em comparação com indivíduos com diagnóstico de obesidade e DM2. Vale salientar, que neste estudo se observou associação positiva do TAMO com HbA1c no DM2 (Araújo *et al.* 2017). No entanto, estes dados não são unânimes, uma vez que Zhu e colaboradores encontraram maior conteúdo de TAMO em pacientes com DM2 (Zhu *et al.*, 2019). Além disso, em trabalho que avaliou a adiposidade de medula por meio de histomorfometria óssea via biópsia do íliaco em mulheres jovens com DM2, foi observada correlação positiva do entre adipócitos de MO e HbA1c, e associação positiva entre mau controle glicêmico e hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos do TAMO (Andrade *et al.*, 2021).

O presente estudo encontrou valores elevados de TAMO na coluna (L3) em pacientes LPF2. Este aumento ocorreu às custas de elevação da taxa de lipídios saturados uma vez que a taxa de lipídios insaturados foi semelhante à do grupo controle. Além disso, houve associação positiva do TAMO total e insaturado na coluna com HbA1c no modelo não ajustado. Não foram observadas correlações negativas entre TAMO de coluna e DMO ou TBS. Já no TAMO de tíbia, o conteúdo adiposo foi semelhante entre os grupos e, curiosamente, a fração saturada foi maior no grupo controle. Foi observada associação negativa da fração saturada do TAMO de tíbia com a DMO de QT. A descrição do TAMO na LPF2 é escassa na literatura, e os poucos estudos disponíveis relatam somente preservação da adiposidade (Garg; Peshock; Fleckenstein, 1999; Mory *et al.*, 2012). Este é o primeiro trabalho a descrever as características do TAMO e a quantificação de suas frações em pacientes com LPF2 usando a técnica padrão para estimativa tecidual de lipídios, a RM com espectroscopia por íons ^1H . O presente estudo contribui nessa linha de pesquisa, sugerindo que a medida de TAMO pode auxiliar na caracterização do fenótipo de

distribuição de adiposidade em pacientes com LPF2. Nossos dados mostram que o TAMO em coluna lombar faz parte de um nicho de preservação e acúmulo de tecido adiposo nesta rara situação. Além disso, o mesmo parece não ocorrer em indivíduos com mutação no *PPARG* (LPF3), embora, essa estimativa tenha sido realizada em apenas uma voluntária

Em um estudo com camundongos, Corsa *et al.* (2021) relataram que a mutação do gene *Lmna* associou-se à redistribuição do tecido adiposo periférico, redução do TAMO constitutivo e regulado, e a aumento de osso cortical nesses animais. O fenótipo foi inverso ao encontrado neste estudo, exceto pela redistribuição da gordura periférica, o que sugere que na mutação do gene laminina A/C, há diferenças entre modelos animais e humanos no desenvolvimento, manutenção e perda de alguns tipos de tecido adiposo, como o TAMO, mas não de outros estoques de gordura.

A compreensão do papel do TAMO nas adaptações metabólicas sistêmicas e no metabolismo ósseo ainda está em construção, mas certamente não acompanha a que ocorre com o tecido adiposo branco. Por exemplo, na situação de restrição alimentar há, tipicamente, expansão de TAMO e isso ocorre em modelo animais de camundongos submetidos à restrição calórica e em mulheres jovens com anorexia nervosa. (Scheller; Rosen, 2014; Bredella *et al.*, 2014). Já na obesidade, uma situação de abundância de calorias, não foi observado aumento do TAMO, sugerindo que o mesmo não atua como sítio de armazenamento para o excesso de energia (de Araújo *et al.*, 2017).

O tecido adiposo da medula óssea parece compartilhar com o tecido adiposo branco a característica de heterogeneidade. Recentemente, foi descrita distinção em pelo menos dois tipos de TAMO. O constitutivo é encontrado nos sítios periféricos e é menos responsivo a estímulos ambientais (Scheller *et al.*, 2019). O regulado é encontrado em sítios axiais e proximais, e responde a estímulos fisiológicos como fatores nutricionais, endócrinos, temperatura e idade (Scheller; Rosen, 2014). O tipo de TAMO e as respostas de cada um podem justificar a diferença de respostas no TAMO de coluna e tíbia observados no presente estudo. Além disso, não há uma padronização na literatura dos sítios usados na avaliação do TAMO. O aumento do TAMO na LPF2 pode, portanto, ser decorrente tanto da preservação desses adipócitos, que não sofrem apoptose secundária à mutação do *LMNA*, como por consequência das alterações metabólicas da LPF2.

A adiposidade de medula na LGC é a mais bem caracterizada entre as lipodistrofias congênitas. O TAMO é reduzido ou ausente nos tipos 1 e 2, e preservado nos tipos 3 e 4 (Simha *et al.*, 2008), indicando que as mutações nos genes *AGPAT2* e *BSCL2*, causando respectivamente os tipos 1 e 2, são necessárias para o desenvolvimento dos adipócitos do TAMO. Os pacientes com LGC 1 e 2 apresentam tendência à massa óssea elevada e osteosclerose, enquanto os tipos 3 e 4, menor DMO (Altay *et al.*, 2017; Teboul-Coré *et al.*, 2016), sugerindo que na ausência de diferenciação em adipócitos, as células mesenquimais da medula favorecem a osteoblastogênese, justificando a alta DMO (Kawai; de Paula; Rosen, 2012).

Outro fator que influencia na quantidade do TAMO é o PPAR γ , fator de transcrição com função conhecida no metabolismo dos lipídios, lipoproteínas, homeostase da glicose, diferenciação, proliferação e morte celular (Rosen; Spiegelman, 2001). Adipócitos e osteoblastos compartilham uma célula mesenquimal progenitora em comum, e o PPAR γ é um fator essencial na diferenciação dos adipócitos (de Paula; Rosen, 2018). Medicamentos usados no tratamento do DM2 para aumento da sensibilidade à insulina, os agonistas do PPAR γ rosiglitazona e pioglitazona apresentam atividade supressora em osteoblastos, aumento de adiposidade de medula, redução da DMO e risco aumentado de fraturas (Grey *et al.*, 2012; Hidayat *et al.*, 2019; Lazarenko *et al.*, 2007). Então, espera-se que a inibição do PPAR γ tenha o efeito oposto, favorecendo o recrutamento de osteoblastos e estimulando a formação óssea. Akune *et al.* (2004) usaram um modelo animal heterozigoto para deficiência de PPAR γ e observaram massa óssea elevada com aumento da osteoblastogênese e redução do TAMO. Estudos subsequentes em animais demonstraram que camundongos *Ppar*^{-/-} exibiam redução significativa de TAMO constitutivo e regulado, e aumento da área e espessura cortical dos ossos (Li *et al.*, 2022).

Esses dados são compatíveis com a avaliação da paciente LPF3 – 1 no presente estudo, portadora de uma mutação inativadora em heterozigose no *PPARG*. Essa paciente apresentou massa óssea normal ou elevada em todos os sítios, o maior conteúdo mineral ósseo de corpo total entre as mulheres com LPF e o segundo maior TBS. Foi observada a menor quantidade de TAMO em L3 (13,4%) de toda amostra, bastante abaixo da média de controles (32,7%) e LPF2 (50,0%) e de descrições na literatura em obesos (31,8%, de Araújo *et al.*, 2019), atletas (39,6%, Wang *et al.*, 2021)

e idosos (55,4%, Woods *et al.*, 2020). Além disso, essa paciente apresentou predomínio de lipídios saturados em L3. O TAMO em tíbia, no entanto, estava preservado com predomínio da fração saturada. É possível que esses dados sejam indícios de maior heterogeneidade na adiposidade da medula óssea nas lipodistrofias. Segundo Scheller e colaboradores, o TAMO da coluna vertebral e da tíbia proximal fazem parte do TAMO regulado (Scheller; Rosen, 2014). Aqui, os dados mostram que pacientes com LPF3 apresentam hipotrofia da TAMO na coluna lombar e preservação de TAMO na tíbia proximal. Infelizmente, os dados são de apenas um indivíduo, mas são instigantes e estimulam a realização de mais estudos para avaliar o papel do TAMO no metabolismo ósseo e energético. Mais uma vez, o presente estudo sugere que o estudo quantitativo do TAMO pode ser uma ferramenta valiosa para discriminação dos diversos subtipos de LPF.

A presença de apenas dois pacientes com LPF3 permitiu somente comparações simples em relação ao grupo LPF2. Vasandani *et al.* (2022), em uma coorte composta por 32 pacientes LPF3 e 255 pacientes LPF2, comparou o perfil metabólico de indivíduos com essas duas condições. Eles observaram no grupo LPF3 que a lipodistrofia é menos aparente ao exame físico, havendo maior preservação da gordura em tronco. No entanto, estes indivíduos apresentam alterações metabólicas mais graves. Na presente amostra, os pacientes LPF3 apresentaram HDLc mais baixo e triglicérides mais elevados em comparação ao grupo LPF2, porém a gordura corporal total foi semelhante ao grupo LPF2, apesar dos valores mais elevados de TAV. A leptina foi, inesperadamente, mais baixa em LPF3 que no grupo LPF2, valores semelhantes aos descritos em 15 pacientes LPF3 por Campeau *et al.* (2012), de 0,96-0,98 ng/mL. Isso pode indicar algum grau de disfunção na secreção de adipocinas na LPF3, visto que a gordura corporal total é parcialmente preservada nessa lipodistrofia. Diferente do que ocorre nas formas generalizadas, a hiperfagia e o apetite voraz são menos intensos nas formas parciais, embora relatos de casos em pacientes LPF3 mostrem redução da fome e aumento da saciedade após tratamento com metreleptina (Lambadiari *et al.*, 2021). Uma hipótese é que o distúrbio metabólico do tecido adiposo na LPF3 tenha associação intrínseca com a mutação do *PPARG*, já que esse é um fator crucial tanto na formação quanto na função do adipócito, enquanto na mutação da *LMNA*, os sítios residuais de gordura manteriam sua funcionalidade e secreção endócrina (Vasandani *et al.*, 2022).

Resistência à insulina é uma das principais características nas lipodistrofias, consequência da deposição ectópica de gordura em sítios indesejados. O acúmulo de lipídios nos miócitos é um dos mecanismos que causa resistência insulínica no músculo esquelético. Dois nichos de acúmulo de lipídios no tecido muscular são descritos: IMCL, localizado dentro do miócito e fonte de energia durante a contração muscular (Brechtel *et al.*, 2001) e EMCL, localizado fora do miócito, entre as fibras musculares e depósito perene de gordura. A primeira tem sido associada à resistência insulínica (Chalkley *et al.*, 1998). Estudos anteriores observaram que a captação de glicose em indivíduos com RI associou-se negativamente a IMCL, mas não a EMCL (Krssak *et al.*, 1999). A correlação entre IMCL e sensibilidade à insulina no músculo foi independente de IMC, idade e GJ, o que sugere que IMCL prediz RI de forma independente (Unger, 2004). Na obesidade e no DM2, a captação muscular de glicose está reduzida e são descritas elevações tanto em IMCL (DeFronzo *et al.*, 1985; Krssak; Roden, 2004), quanto em EMCL (Kiefer *et al.*, 2021).

Dados sobre o conteúdo de gordura e distribuição de lipídios musculares nas lipodistrofias parciais são limitados. Estudos com formas generalizadas descrevem aumento de IMCL na LGC comparada a controles, e redução discreta após o uso de metreleptina, porém nas formas parciais, apesar da melhora metabólica, metreleptina não demonstrou queda de IMCL ou EMCL (Brown *et al.*, 2018; Petersen *et al.*, 2002; Simha *et al.*, 2003). No presente estudo, foi observado aumento significativo de IMCL no grupo LPF2, mas não de EMCL, e correlação positiva de IMCL com marcadores de dislipidemia e RI, como triglicérides, insulina, HOMA-IR e TAV. Não se observou, como esperado, correlação negativa de IMCL ou da relação IMCL/EMCL com massa óssea ou TBS. Esses achados auxiliam na definição do fenótipo de distribuição de tecido adiposo nesta doença, revelam que o miócito é um sítio de deposição ectópica de lipídios na LPF e que provavelmente tem relação com o grave quadro metabólico da doença caracterizado por RI, captação periférica reduzida de glicose e DM. Como já descrito, marcadores de RI não parecem ter efeito negativo na DMO.

A importância metabólica do EMCL, no entanto, é pouca conhecida, e embora mais volumoso que IMCL, é geralmente preterido nos estudos por não apresentar correlação significativa com RI (Abdul-Ghani; DeFronzo, 2010). No presente trabalho, foi observada associação positiva entre EMCL e diabetes (GJ e HbA1c), e negativa de EMCL tanto com DMO quanto com TBS. Kiefer *et al.* (2021) também encontraram

correlação positiva de GJ e HbA1c com EMCL em pacientes com pré-diabetes e diabetes. Spuler *et al.* (2007) observaram que pacientes com LPF2 apresentavam hipertrofia muscular, porém maior fadigabilidade durante o exercício. Uma hipótese é que o aumento de EMCL afete o metabolismo do músculo, levando ao comprometimento da força muscular. O achado de associação negativa entre EMCL, DMO e TBS nos indivíduos com LPF2 é mais um dado original do presente estudo. Além disso, os dados sugerem que esse tecido adiposo pode, potencialmente, influenciar de forma negativa o metabolismo de glicose bem como a massa óssea, embora seja necessário pontuar que a análise de associação não guarda relação de causa/efeito.

Há, sem dúvidas, dificuldades no diagnóstico das lipodistrofias parciais, principalmente se não houver familiaridade com as características da doença. Diversos índices e valores de corte já foram propostos para auxiliar no diagnóstico clínico da LPF. Valério *et al.* (2012) propuseram o uso do FMR (razão da massa gorda em tronco pela massa gorda em membros inferiores) com um valor de corte maior que 1,2 (sensibilidade = 0,889; especificidade = 0,938) para mulheres com LPF. Vasandani *et al.* (2020) propuseram usar o percentual de gordura em membros inferiores (%GMMII) menor que 25,8% (sensibilidade = 1,0; especificidade = 0,995); esse valor de corte foi estabelecido após comparar 1652 controles da base NHANES com 23 pacientes com LPF2, todas do sexo feminino. Para cada faixa etária, foi determinado o menor percentil que apresentaria a melhor sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de LPF2 (1º percentil), e esse intervalo foi de 25,8% a 29,3% nas idades analisadas. Não foram estabelecidos valores para o sexo masculino. Ambos os critérios descritos são usados pelo programa nacional francês de diagnóstico e cuidados à síndrome de Dunnigan (Mosbah *et al.*, 2022). Já Meral *et al.* (2018) propuseram uma escala visual obtida na densitometria em que as sombras de gordura são usadas para auxiliar no diagnóstico. Uma amostra de 16 pacientes com LPF e 126 controles foi avaliada por dois investigadores, de forma independente. LPF foi distinguida de controles com sensibilidade de 0,85 e especificidade de 0,96.

No presente estudo, foi observado entre as mulheres com diagnóstico confirmado de mutação no gene *LMNA*, que 2/12 apresentaram FMR menor que 1,2 e nenhuma das pacientes apresentou %GMMII maior que 25,8%. As três pacientes incluídas na análise final sem confirmação molecular apresentam o critério de

%GMMII menor que 25,8% e duas delas FMR maior que 1,2. Na presente amostra, a sensibilidade e especificidade para FMR foram, respectivamente, 0,833 e 0,944; para %GMMII foi 1,0 e 1,0 (não houveram falso-positivos entre os controles). Estudo realizado nesta população de pacientes por Resende *et al.* (2019) já havia observado, na bioimpedância, aumento significativo da relação cintura-quadril e redução significativa da prega subcutânea de coxa em comparação ao grupo controle, parâmetros semelhantes ao FMR e %GMMII. Na escala visual de sombras de gordura, todos os pacientes incluídos no grupo LPF, inclusive os 4 pacientes sem confirmação genética, possuem imagens sugestivas, porém não houve avaliação independente de outros pesquisadores.

Este trabalho reforça a importância do uso da composição corporal pela densitometria como ferramenta complementar no diagnóstico das lipodistrofias. Atualmente, este exame é razoavelmente acessível fora de grandes centros, tem índices padronizados, está sujeito a menos erros técnicos em comparação a medições antropométricas, tem custo baixo e pouca exposição à radiação. Ele pode ser usado como ferramenta de seleção, com mais acurácia, de pacientes a serem encaminhados para confirmação genética. Um ponto a ser destacado é a redução significativa de gordura na região gluteofemoral, um sítio de menor atividade lipolítica e metabolicamente menos prejudicial (Mann; Savage, 2019), e menos associado a DM2 e doença arterial coronariana (Kiefer *et al.*, 2021). Este achado reforça a observação de prevalência aumentada e precoce de DM e dislipidemia observadas na LPF no presente estudo.

Em resumo, estes resultados sugerem que a resistência insulínica não exerce influência negativa no tecido ósseo, mas prejudica sua qualidade em um grupo de pacientes jovens com LPF2. Nesses indivíduos, o TAMO e o miócito são locais de acúmulo de lipídios, mas não mostraram associação negativa com a massa óssea. Características de composição corporal obtidas na densitometria, como FMR e %GMMI, ajudam na suspeita diagnóstica de pacientes com LPF. No entanto, ainda são necessários mais estudos na área das lipodistrofias para compreendermos melhor essa doença.

7. Conclusão

Este é o primeiro trabalho a caracterizar a densidade mineral óssea nos sítios padronizados pela OMS e o TBS em pacientes LPF2, e a fornecer uma descrição pormenorizada dos depósitos de gordura na medula óssea e muscular desses pacientes. O presente estudo mostra que indivíduos com grave resistência insulínica por LPF2 apresentam massa óssea preservada em coluna lombar e fêmur proximal, semelhante ao que ocorre na obesidade e no DM2. No entanto, foi observado redução de massa óssea no antebraço, sugerindo prejuízo de osso cortical. O TBS captura alterações de qualidade óssea na LPF2 e pode ser uma ferramenta útil na estimativa de fratura nesta situação. Esses dados contribuem para reforçar o conceito de que a resistência à insulina não se associa negativamente com massa óssea. O presente estudo contribui para aprimorar o fenótipo de distribuição de tecido adiposo nas lipodistrofias parciais familiares, mostrando que na LPF2 há aumento de TAMO na coluna lombar e no tecido muscular, enquanto na LPF3 o TAMO em coluna lombar parece ser reduzido. Finalmente, não se observou relação entre deposição de gordura intramiocelular e massa óssea, e a diferenciação de osteoclastos também não exerceu impacto na DMO.

8. Referências

ABDUL-GHANI, M. A.; DEFRONZO, R. A. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, p. 1-19, jan. 2010.

AGRAWAL, S. *et al.* BMI-adjusted adipose tissue volumes exhibit depot-specific and divergent associations with cardiometabolic diseases. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, dez. 2023.

AGUIRRE, J. I. *et al.* Osteocyte Apoptosis Is Induced by Weightlessness in Mice and Precedes Osteoclast Recruitment and Bone Loss. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 21, n. 4, p. 605–615, jan. 2006.

AKUNE, T. *et al.* PPAR γ insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. **Journal of Clinical Investigation**, v. 113, n. 6, p. 846–855, mar. 2004.

ALBERTI, K. G. M. M. *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640–5, 2009.

ALTAY, C. *et al.* Determining residual adipose tissue characteristics with MRI in patients with various subtypes of lipodystrophy. **Diagnostic and Interventional Radiology**, v. 23, n. 6, p. 428–434, nov. 2017.

ANDRADE, V. F. C. *et al.* Bone Marrow Adiposity in Premenopausal Women With Type 2 Diabetes With Observations on Peri-Trabecular Adipocytes. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 106, n. 9, p. e3592–e3602, maio 2021.

ARAUJO-VILAR, D. *et al.* Site-dependent differences in both prelamina A and adipogenic genes in subcutaneous adipose tissue of patients with type 2 familial partial lipodystrophy. **Journal of Medical Genetics**, v. 46, n. 1, p. 40–48, set. 2008.

BATISTA, S. L. *et al.* Beyond the metabolic syndrome: Visceral and marrow adipose tissues impair bone quantity and quality in Cushing's disease. **PLoS ONE**, v. 14, n. 10, out. 2019.

BAUM, T. *et al.* Does vertebral bone marrow fat content correlate with abdominal adipose tissue, lumbar spine bone mineral density, and blood biomarkers in women with type 2 diabetes mellitus? **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 35, n. 1, p. 117–124, jan. 2012.

BAUMGARTNER, R. N. *et al.* Epidemiology of Sarcopenia among the Elderly in New Mexico. **American Journal of Epidemiology**, v. 147, n. 8, p. 755–763, abr. 1998.

BOGUSLAVSKY, R. L.; STEWART, C. L.; WORMAN, H. J. Nuclear lamin A inhibits adipocyte differentiation: implications for Dunnigan-type familial partial lipodystrophy. **Human Molecular Genetics**, v. 15, n. 4, p. 653–663, fev. 2006.

BOLAMPERTI, S.; VILLA, I.; RUBINACCI, A. Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence. **Bone Research**, v. 10, n. 48, p. 1-19, dez. 2022.

BONDS, D. E. *et al.* Risk of Fracture in Women with Type 2 Diabetes: The Women's Health Initiative Observational Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 91, n. 9, p. 3404–3410, set. 2006.

BONNET, E. *et al.* Total Body Composition by DXA of 241 HIV-Negative Men and 162 HIV-Infected Men Proposal of Reference Values for Defining Lipodystrophy. **Journal of Clinical Densitometry**, v. 8, n. 3, p. 287-292, fev. 2005.

BOZAOGLU, K. *et al.* Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. **Endocrinology**, v. 148, n. 10, p. 4687–4694, out. 2007.

BRECHTEL, K. *et al.* Utilisation of Intramyocellular Lipids (IMCLs) During Exercise as Assessed by Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (1H-MRS). **Hormone and Metabolic Research**, v. 33, n. 2, p. 63–66, fev. 2001.

BREDELLA, M. A. *et al.* Vertebral bone marrow fat is positively associated with visceral fat and inversely associated with IGF-1 in obese women. **Obesity**, v. 19, n. 1, p. 49–53, jan. 2011.

BREDELLA, M. A. *et al.* Marrow fat composition in anorexia nervosa. **Bone**, v. 66, p. 199–204, set. 2014.

BROWN, R. J. *et al.* The diagnosis and management of lipodystrophy syndromes: A multi-society practice guideline. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 101, n. 12, p. 4500–4511, dez. 2016.

BROWN, R. J. *et al.* Metreleptin-mediated improvements in insulin sensitivity are independent of food intake in humans with lipodystrophy. **Journal of Clinical Investigation**, v. 128, n. 8, p. 3504–3516, ago. 2018.

BROWN, R. J.; GORDEN, P. Leptin Therapy in Patients with Lipodystrophy and Syndromic Insulin Resistance. **Leptin**. Springer International Publishing eBooks, p. 225–236, out. 2014

BURGHARDT, A. J. *et al.* High-Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomographic Imaging of Cortical and Trabecular Bone Microarchitecture in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 11, p. 5045–5055, nov. 2010.

CAMPEAU, P. M. *et al.* Clinical and molecular characterization of a severe form of partial lipodystrophy expanding the phenotype of PPAR γ deficiency. **Journal of Lipid Research**, v. 53, n. 9, p. 1968–1978, set. 2012.

CAPEAU, J. *et al.* Human Lipodystrophies: Genetic and Acquired Diseases of Adipose Tissue. **S. Karger AG eBooks**, v. 19, p. 1–20, jan. 2010.

CHAKAROUN, R. *et al.* Effects of weight loss and exercise on chemerin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. **Metabolism**, v. 61, n. 5, p. 706–714, maio 2012.

CHALKLEY, S. M. *et al.* Five-hour fatty acid elevation increases muscle lipids and impairs glycogen synthesis in the rat. **Metabolism**, v. 47, n. 9, p. 1121–1126, set. 1998.

CHIQUETTE, E. *et al.* Estimating the prevalence of generalized and partial lipodystrophy: Findings and challenges. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, v. 10, p. 375–383, set. 2017.

CHONG, A. Y. *et al.* Efficacy of leptin therapy in the different forms of human lipodystrophy. **Diabetologia**, v. 53, n. 1, p. 27–35, 2 jan. 2010.

CHRISTENSEN, J. D. *et al.* Bone Mineral Content in Patients with Congenital Generalized Lipodystrophy Is Unaffected by Metreleptin Replacement Therapy. **The**

Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 99, n. 8, p. E1493–E1500, ago. 2014.

COMPSTON, J. E. *et al.* Obesity Is Not Protective against Fracture in Postmenopausal Women: GLOW. **The American Journal of Medicine**, v. 124, n. 11, p. 1043–1050, nov. 2011.

COMPSTON, J. Type 2 diabetes mellitus and bone. **Journal of Internal Medicine**, v. 283, n. 2, p. 140–153, 8 jan. 2018.

CONTE, C.; EPSTEIN, S.; NAPOLI, N. Insulin resistance and bone: a biological partnership. **Acta Diabetologica**, v. 55, n. 4, p. 305–314, 15 jan. 2018.

CORMIER, C.; LAMY, O.; PORIAU, S. TBS in Routine Clinical Practice: Proposals of Use, 2012. Disponível em: <https://www.medimapsgroup.com/tbs-insight-documentation-learn-about-trabecular-bone-score/>. Acesso em: 30 jan. 2023.

CORSA, C. A. S. *et al.* Adipocyte-Specific Deletion of Lamin A/C Largely Models Human Familial Partial Lipodystrophy Type 2. **Diabetes**, v. 70, n. 9, p. 1970–1984, set. 2021.

DE ARAÚJO, I. M. *et al.* Marrow adipose tissue spectrum in obesity and type 2 diabetes mellitus. **European Journal of Endocrinology**, v. 176, n. 1, p. 21–30, jan. 2017.

DE ARAÚJO, I. M. *et al.* Insulin resistance negatively affects bone quality not quantity: the relationship between bone and adipose tissue. **Osteoporosis International**, v. 31, n. 6, p. 1125–1133, jun. 2020.

DE ARAÚJO, I. M.; MOREIRA, M. L. M.; DE PAULA, F. J. A. **Diabetes and bone. Archives of Endocrinology and Metabolism.** Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, v. 66, n. 5, p. 633–641, ago. 2022.

DE LAET, C. *et al.* Body mass index as a predictor of fracture risk: A meta-analysis. **Osteoporosis International**, v. 16, n. 11, p. 1330–1338, nov. 2005.

DE PAULA, F. J. A. *et al.* The relationship of fat distribution and insulin resistance with lumbar spine bone mass in women. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, jun. 2015.

DE PAULA, F. J. A.; ROSEN, C. J. Vitamin D safety and requirements. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 523, n. 1, p. 64–72, jul. 2012.

DE PAULA, F. J. A.; ROSEN, C. J. Structure and function of bone marrow adipocytes. **Comprehensive Physiology**, v. 8, n. 1, p. 315–349, jan. 2018.

DEFRONZO, R. A. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. **Diabetes**, v. 58, n. 4, p. 773–795, abr. 2009.

DIKER-COHEN, T. *et al.* Partial and Generalized Lipodystrophy: Comparison of Baseline Characteristics and Response to Metreleptin. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 5, p. 1802–1810, maio 2015.

DOS REIS, R. C. P. *et al.* Evolution of diabetes in Brazil: prevalence data from the 2013 and 2019 Brazilian National Health Survey. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 38, n. 1, maio 2022.

DUFOUR, R. *et al.* Generation and validation of a normative, age-specific reference curve for lumbar spine trabecular bone score (TBS) in French women. **Osteoporosis International**, v. 24, n. 11, p. 2837–2846, nov. 2013.

DUNNIGAN, M. G. *et al.* Familial Lipoatrophic Diabetes with Dominant Transmission a new syndrome. **The Quarterly Journal of Medicine**, v. 43, n. 169, p. 33-48, jan. 1974

EPSTEIN, S. *et al.* Diabetes and disordered bone metabolism (diabetic osteodystrophy): time for recognition. **Osteoporosis International**, v. 27, n. 6, p. 1931–1951, jun. 2016.

EVANS, A. L. *et al.* Bone Density, Microstructure and Strength in Obese and Normal Weight Men and Women in Younger and Older Adulthood. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 30, n. 5, p. 920–928, maio 2015.

FERNÁNDEZ-POMBO, A. *et al.* Bone mineral density in familial partial lipodystrophy. **Clinical Endocrinology**, v. 88, n. 1, p. 44–50, jan. 2018.

FERRARI, S. L. *et al.* Diagnosis and management of bone fragility in diabetes: an emerging challenge. **Osteoporosis International**, v. 29, n. 12, p. 2585-2596, dez. 2018.

FERRON, M. *et al.* Intermittent injections of osteocalcin improve glucose metabolism and prevent type 2 diabetes in mice. **Bone**, v. 50, n. 2, p. 568–575, fev. 2012.

FOSS-FREITAS, M. C. *et al.* Body Composition And Bone Mineral Differences According to Lamin A (LMNA) Genotype in Familial Partial Lipodystrophy Type 2. **J Endocrine Soc**, v. 5, n.1, p. 271–271, abr. 2021.

FREIRE, E. *et al.* Bone Mineral Density in Congenital Generalized Lipodystrophy: The Role of Bone Marrow Tissue, Adipokines, and Insulin Resistance. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 18, p. 9724–9724, set. 2021.

FULZELE, K. *et al.* Insulin Receptor Signaling in Osteoblasts Regulates Postnatal Bone Acquisition and Body Composition. **Cell**, v. 142, n. 2, p. 309–319, jul. 2010.

GARG, A. Acquired and Inherited Lipodystrophies. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 12, p. 1220–1234, mar. 2004.

GARG, A. Lipodystrophies: Genetic and acquired body fat disorders. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 96, n. 11, p. 3313–3325, nov. 2011.

GARG, A.; PESHOCK, R. M.; FLECKENSTEIN, J. L. Adipose Tissue Distribution Pattern in Patients with Familial Partial Lipodystrophy (Dunnigan Variety). **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 84, n. 1, p. 170–174, jan. 1999.

GARG, A. *et al.* Phenotypic heterogeneity in patients with familial partial lipodystrophy (dunnigan variety) related to the site of missense mutations in lamin a/c gene. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 86, n. 1, p. 59–65, jan. 2001.

GELONEZE, B. *et al.* HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 2, p. 281–287, mar. 2009.

GIRALT, M.; VILLARROYA, F.; ARAÚJO-VILAR, D. Lipodystrophy. **Elsevier eBooks**, v. 1, p. 482–495, jan. 2019.

GKASTARIS, K. *et al.* Obesity, osteoporosis and bone metabolism. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 20, n. 3, p. 372–381, set. 2020.

GORALSKI, K. B. *et al.* Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 38, p. 28175–28188, set. 2007.

GORDEN, P. *et al.* Is there a human model for the “metabolic syndrome” with a defined aetiology? **Diabetologia**, v. 53, n. 7, p. 1534–1536, jul. 2010.

GREY, A. *et al.* Pioglitazone increases bone marrow fat in type 2 diabetes: results from a randomized controlled trial. **European Journal of Endocrinology**, v. 166, n. 6, p. 1087–1091, jun. 2012.

GRIFFITH, J. F. *et al.* Vertebral Bone Mineral Density, Marrow Perfusion, and Fat Content in Healthy Men and Men with Osteoporosis: Dynamic Contrast-enhanced MR Imaging and MR Spectroscopy. **Radiology**, v. 236, n. 3, p. 945–951, set. 2005.

GU, P. *et al.* The metabolic score of insulin resistance is positively correlated with bone mineral density in postmenopausal patients with type 2 diabetes mellitus. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, dez. 2023.

GUILLÍN-AMARELLE, C. *et al.* Type 1 familial partial lipodystrophy: understanding the Köbberling syndrome. **Endocrine**, v. 54, n. 2, jul. 2016.

HAQUE, W. *et al.* Risk Factors for Diabetes in Familial Partial Lipodystrophy, Dunnigan Variety. **Diabetes Care**, v. 26, n. 5, p. 1350–1355, maio 2003.

HEGELE, R. A. *et al.* LMNA R482Q Mutation in Partial Lipodystrophy Associated with Reduced Plasma Leptin Concentration. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 9, p. 3089–3093, set. 2000.

HIDAYAT, K. *et al.* The use of metformin, insulin, sulphonylureas, and thiazolidinediones and the risk of fracture: Systematic review and meta-analysis of observational studies. **Obesity Reviews**, v. 20, n. 10, p. 1494–1503, out. 2019.

HOLLOWAY, K. L. *et al.* Trabecular Bone Score in Men and Women with Impaired Fasting Glucose and Diabetes. **Calcified Tissue International**, v. 102, n. 1, p. 32–40, jan. 2018.

HUSSAIN, I.; GARG, A. Lipodystrophy Syndromes. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 45, n. 4, p. 783–797, 1 dez. 2016.

IBRAHIM, S. E. *et al.* Serum leptin concentration, bone mineral density and bone biochemical markers in a sample of Egyptian women: A possible relationship. **The Egyptian Rheumatologist**, v. 33, n. 4, p. 171–177, out. 2011.

IKI, M. *et al.* Hyperglycemia is associated with increased bone mineral density and decreased trabecular bone score in elderly Japanese men: The Fujiwara-kyo osteoporosis risk in men (FORMEN) study. **Bone**, v. 105, p. 18–25, dez. 2017.

JACKSON, S. N. J. *et al.* Dunnigan-Kobberling syndrome: an autosomal dominant form of partial lipodystrophy. **QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians**, v. 90, n. 1, p. 27–36, jan. 1997.

JACKULIAK, P. *et al.* Good Long-Term Glycemic Compensation Is Associated with Better Trabecular Bone Score in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes. **Physiological Research**, p. S149–S156, nov. 2019.

JUSTESEN, J. *et al.* Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. **Biogerontology**, v. 2, n. 3, p. 165–171, 2001.

KANAZAWA, I. *et al.* Serum Osteocalcin Level Is Associated with Glucose Metabolism and Atherosclerosis Parameters in Type 2 Diabetes Mellitus. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 94, n. 1, p. 45–49, jan. 2009.

KAWAI, M.; DE PAULA, F. J. A.; ROSEN, C. J. New insights into osteoporosis: the bone-fat connection. **Journal of Internal Medicine**, v. 272, n. 4, p. 317–329, jul. 2012.

KAWAI, M.; ROSEN, C. J. PPAR γ : A circadian transcription factor in adipogenesis and osteogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, nov. 2010.

KAWAI, M.; ROSEN, C. J. PPAR γ : a circadian transcription factor in adipogenesis and osteogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 6, n. 11, p. 629–636, set. 2010.

KHOSLA, S. *et al.* Relationship between body composition and bone mass in women. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 11, n. 6, p. 857–863, 1996.

KIEFER, L. S. *et al.* Distribution patterns of intramyocellular and extramyocellular fat by magnetic resonance imaging in subjects with diabetes, prediabetes and normoglycaemic controls. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 23, n. 8, p. 1868–1878, ago. 2021.

KIM, J. H. *et al.* Trabecular Bone Score as an Indicator for Skeletal Deterioration in Diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 2, p. 475–482, fev. 2015.

KIM, K. M. *et al.* Favorable effects of skeletal muscle on bone are distinguished according to gender and skeletal sites. **Osteoporosis and Sarcopenia**, v. 3, n. 1, p. 32–36, mar. 2017.

KOBBERLING J *et al.* Lipodystrophy of the extremities. A dominantly inherited syndrome associated with lipotrophic diabetes. **Humangenetik**, v. 29, p. 111–120, 1975.

KOBBERLING, J.; DUNNIGAN, M. G. Familial partial lipodystrophy: two types of an X linked dominant syndrome, lethal in the hemizygous state. **Journal of Medical Genetics**, v. 23, n. 2, p. 120–127, abr. 1986.

KOO, E. *et al.* The Metabolic Equivalent BMI in Patients with Familial Partial Lipodystrophy (FPLD) Compared with Those with Severe Obesity. **Obesity**, v. 29, n. 2, p. 274–278, jan. 2021.

KRSSAK, M. *et al.* Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. **Diabetologia**, v. 42, n. 1, p. 113–116, jan. 1999.

KRSSAK, M.; RODEN, M. The Role of Lipid Accumulation in Liver and Muscle for Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Mellitus in Humans. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 5, n. 2, p. 127–134, maio 2004.

LAMBADIARI, V. *et al.* Case Report: Metreleptin Treatment in a Patient with a Novel Mutation for Familial Partial Lipodystrophy Type 3, Presenting with Uncontrolled Diabetes and Insulin Resistance. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, jun. 2021.

LANDGRAF, K. *et al.* Chemerin as a Mediator between Obesity and Vascular Inflammation in Children. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 4, p. E556–E564, abr. 2012.

LAZARENKO, O. P. *et al.* Rosiglitazone Induces Decreases in Bone Mass and Strength that Are Reminiscent of Aged Bone. **Endocrinology**, v. 148, n. 6, p. 2669–2680, jun. 2007.

LEE, N. K. *et al.* Endocrine Regulation of Energy Metabolism by the Skeleton. **Cell**, v. 130, n. 3, p. 456–469, ago. 2007.

LESLIE, W. D. *et al.* TBS (Trabecular Bone Score) and Diabetes-Related Fracture Risk. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 98, n. 2, p. 602–609, fev. 2013.

LESLIE, W. D. *et al.* Comparison of Methods for Improving Fracture Risk Assessment in Diabetes: The Manitoba BMD Registry. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 33, n. 11, p. 1923–1930, nov. 2018.

LI, X. *et al.* Quantification of vertebral bone marrow fat content using 3 tesla MR spectroscopy: Reproducibility, vertebral variation, and applications in osteoporosis. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 33, n. 4, p. 974–979, abr. 2011.

LI, X.; SCHWARTZ, A. V. MRI Assessment of Bone Marrow Composition in Osteoporosis. **Current Osteoporosis Reports**, v. 18, n. 1, p. 57–66, jan. 2020.

LI, Z. *et al.* Constitutive bone marrow adipocytes suppress local bone formation. **JCI insight**, v. 7, n. 21, nov. 2022.

LIANG, Y. *et al.* Low osteocalcin level is a risk factor for impaired glucose metabolism in a Chinese male population. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 7, n. 4, p. 522–528, jul. 2016.

LIGHTBOURNE, M.; BROWN, R. J. Genetics of Lipodystrophy. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 46, n. 2, p. 539–554, jun. 2017.

LIMA, J. G. *et al.* Clinical and laboratory data of a large series of patients with congenital generalized lipodystrophy. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 8, n. 1, mar. 2016a.

LIMA, J. G. *et al.* Conversations between insulin and bone: Potential mechanism of high bone density in patients with Berardinelli-Seip Congenital Lipodystrophy. **Medical Hypotheses**, v. 97, p. 94–97, dez. 2016b.

LIMA, J. G. *et al.* Normal bone density and trabecular bone score, but high serum sclerostin in congenital generalized lipodystrophy. **Bone**, v. 101, p. 21–25, ago. 2017.

LIMA, J. G. *et al.* Bone Density in Patients with Berardinelli-Seip Congenital Lipodystrophy Is Higher in Trabecular Sites and in Type 2 Patients. **Journal of Clinical Densitometry**, v. 21, n. 1, p. 61–67, jan. 2018.

MA, L. *et al.* Association between bone mineral density and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. **European Journal of Epidemiology**, v. 27, n. 5, p. 319–332, maio 2012.

MACHANN, J. *et al.* Intramyocellular lipids and insulin resistance. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 6, n. 4, p. 239–248, jul. 2004.

MACIEL, J. G. *et al.* Marrow Fat Quality Differences by Sex in Healthy Adults. **Journal of Clinical Densitometry**, v. 20, n. 1, p. 106–113, jan. 2017.

MAJIMA, T. *et al.* Decreased bone mineral density at the distal radius, but not at the lumbar spine or the femoral neck, in Japanese type 2 diabetic patients. **Osteoporosis International**, v. 16, n. 8, p. 907–913, ago. 2005.

MANN, J. P.; SAVAGE, D. B. What lipodystrophies teach us about the metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 10, p. 4009–4021, ago. 2019.

MCCLOSKEY, E. V. *et al.* Adjusting Fracture Probability by Trabecular Bone Score. **Calcified Tissue International**, v. 96, n. 6, p. 500–509, jun. 2015.

MCGILL, A.-T. *et al.* Relationships of low serum vitamin D3 with anthropometry and markers of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. **Nutrition Journal**, v. 7, n. 1, p. 4, dez. 2008.

MELMED, S. *et al.* **Williams Textbook of Endocrinology**. 14. ed. Philadelphia: Elsevier, 2019. 2172 p. ISBN 978-0-323-55596-8

MERAL, R. *et al.* “Fat Shadows” From DXA for the Qualitative Assessment of Lipodystrophy: When a Picture Is Worth a Thousand Numbers. **Diabetes Care**, v. 41, n. 10, p. 2255–2258, set. 2018.

MESSINA, C. *et al.* Increasing soft tissue thickness does not affect trabecular bone score reproducibility: a phantom study. **Endocrine**, v. 61, n. 2, p. 336–342, ago. 2018.

MEUNIER, P. *et al.* Osteoporosis and the Replacement of Cell Populations of the Marrow by Adipose Tissue. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 80, p. 147–154, out. 1971.

MOAYERI, A. *et al.* Fracture risk in patients with type 2 diabetes mellitus and possible risk factors: a systematic review and meta-analysis. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. Volume 13, p. 455–468, abr. 2017.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 8. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, 2013. 757 p. ISBN 978-1-118-14692-7

MOON H. U. *et al.* Reduction of visceral fat could be related to the improvement of TBS in diabetes mellitus. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 38, n. 5, p. 702–709, maio 2020.

MORIN, S.; LESLIE, W. D. High bone mineral density is associated with high body mass index. **Osteoporosis International**, v. 20, n. 7, p. 1267–1271, jul. 2009.

MOSBAH, H. *et al.* Dunnigan lipodystrophy syndrome: French National Diagnosis and Care Protocol (PNDS; Protocole National de Diagnostic et de Soins). **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 17, n. S1, p. 170, abr. 2022.

MURUGANANDAN, S. *et al.* Chemerin, a novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ (PPAR γ) target gene that promotes mesenchymal stem cell adipogenesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 27, p. 23982–23995, jul. 2011.

MURUGANANDAN, S. *et al.* Chemerin neutralization blocks hematopoietic stem cell osteoclastogenesis. **Stem Cells**, v. 31, n. 10, p. 2172–2182, out. 2013.

MURUGANANDAN, S. *et al.* Chemokine-Like Receptor 1 Is a Novel Wnt Target Gene that Regulates Mesenchymal Stem Cell Differentiation. **Stem Cells**, v. 35, n. 3, p. 711–724, mar. 2017.

MYERS, M. G.; COWLEY, M. A.; MÜNZBERG, H. Mechanisms of Leptin Action and Leptin Resistance. **Annual Review of Physiology**, v. 70, n. 1, p. 537–556, mar. 2008.

NAPOLI, N. *et al.* Effect of Insulin Resistance on BMD and Fracture Risk in Older Adults. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 104, n. 8, p. 3303–3310, ago. 2019.

OZER F. L. *et al.* A new genetic variety of lipodystrophy. **Clin. Res**, v. 21, n. 533, 1973.

PALOMO, T. *et al.* Update on trabecular bone score. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 66, n. 5, p. 694–706, set. 2022.

PALOMO, T.; DREYER, P.; *et al.* Effect of soft tissue noise on trabecular bone score in postmenopausal women with diabetes: A cross sectional study. **Bone**, v. 157, abr. 2022.

PATNI, N.; GARG, A. Lipodystrophy for the Diabetologist-What to Look For. **Current Diabetes Reports**, v. 22, n. 9, p. 461–470, set. 2022.

PATSCH, J. M. *et al.* Bone marrow fat composition as a novel imaging biomarker in postmenopausal women with prevalent fragility fractures. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 28, n. 8, p. 1721–1728, ago. 2013a.

PATSCH, J. M. *et al.* Increased cortical porosity in type 2 diabetic postmenopausal women with fragility fractures. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 28, n. 2, p. 313–324, fev. 2013b.

PEDRO, A. O.; PLAPLER, P. G.; SZEJNFELD, V. L. **Manual brasileiro de osteoporose: orientações práticas para os profissionais de saúde**. 1. ed. São Paulo: Editora Clannad, 2021. 148 p. ISBN 978-65-89832-00-3

PERUMALSAMY, S. *et al.* Chemokine Like Receptor-1 (CMKLR-1) Receptor: A Potential Therapeutic Target in Management of Chemerin Induced Type 2 Diabetes Mellitus and Cancer. **Current Pharmaceutical Design**, v. 23, n. 25, set. 2017.

PETERS, J. M. *et al.* Localization of the gene for familial partial lipodystrophy (Dunnigan variety) to chromosome 1q21–22. **Nature Genetics**, v. 18, n. 3, p. 292–295, mar. 1998.

PETERSEN, K. F. *et al.* Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. **Journal of Clinical Investigation**, v. 109, n. 10, p. 1345–1350, maio 2002.

PITTAS, A. G. *et al.* Association between Serum Osteocalcin and Markers of Metabolic Phenotype. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 94, n. 3, p. 827–832, mar. 2009.

PLOTKIN, L. I.; BELLIDO, T. Osteocytic signalling pathways as therapeutic targets for bone fragility. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 12, n. 10, p. 593–605, out. 2016.

R CORE TEAM (2022). **R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing** Vienna, 2022. Disponível em: <https://www.R-project.org>.

Acesso em: 13 jun. 2023

RAMOS-JUNIOR, E. S. *et al.* Adipokine Chemerin Bridges Metabolic Dyslipidemia and Alveolar Bone Loss in Mice. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 32, n. 5, p. 974–984, maio 2017.

REID, I. R. Fat and bone. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 503, n. 1, p. 20–27, nov. 2010.

RESENDE, A. T. P. *et al.* Phenotypic diversity and glucocorticoid sensitivity in patients with familial partial lipodystrophy type 2. **Clinical Endocrinology**, v. 91, n. 1, p. 94–103, jul. 2019.

ROSEN, C. J. *et al.* IOM Committee Members Respond to Endocrine Society Vitamin D Guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 4, p. 1146–1152, abr. 2012.

ROSEN, E. D.; SPIEGELMAN, B. M. PPAR γ : a Nuclear Regulator of Metabolism, Differentiation, and Cell Growth. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 41, p. 37731–37734, out. 2001.

SABEK, O. M. *et al.* Osteocalcin Effect on Human β -Cells Mass and Function. **Endocrinology**, v. 156, n. 9, p. 3137–3146, set. 2015.

SAVAGE, D. B. *et al.* Accumulation of saturated intramyocellular lipid is associated with insulin resistance. **Journal of Lipid Research**, v. 60, n. 7, p. 1323–1332, maio 2019.

SHELLER, E. L. *et al.* Bone marrow adipocytes resist lipolysis and remodeling in response to β -adrenergic stimulation. **Bone**, v. 118, p. 32–41, jan. 2019.

SHELLER, E. L.; ROSEN, C. J. What's the matter with MAT? Marrow adipose tissue, metabolism, and skeletal health. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1311, n. 1, p. 14–30, mar. 2014.

SCHWARTZ, A. V. *et al.* Vertebral bone marrow fat associated with lower trabecular BMD and prevalent vertebral fracture in older adults. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 98, n. 6, p. 2294–2300, jun. 2013.

SCHWARTZ, M. W. *et al.* Central nervous system control of food intake. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 661–671, abr. 2000.

SHACKLETON, S. *et al.* LMNA, encoding lamin A/C, is mutated in partial lipodystrophy. **Nature Genetics**, v. 24, n. 2, p. 153–156, fev. 2000.

SHANBHOGUE, V. V. *et al.* Association Between Insulin Resistance and Bone Structure in Nondiabetic Postmenopausal Women. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 101, n. 8, p. 3114–3122, ago. 2016.

SHARMA, D. K. *et al.* Visceral fat is a negative determinant of bone health in obese postmenopausal women. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 11, jun. 2020.

SIENKIEWICZ, E. *et al.* Long-term metreleptin treatment increases bone mineral density and content at the lumbar spine of lean hypoleptinemic women. **Metabolism**, v. 60, n. 9, p. 1211–1221, set. 2011.

SILVA, B. C. *et al.* Trabecular Bone Score: A Noninvasive Analytical Method Based Upon the DXA Image. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 29, n. 3, p. 518–530, fev. 2014.

SILVA, B. C.; BILEZIKIAN, J. P. Trabecular bone score: perspectives of an imaging technology coming of age. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n. 5, p. 493–503, jul. 2014.

SIMHA, V. *et al.* Novel subtype of congenital generalized lipodystrophy associated with muscular weakness and cervical spine instability. **American Journal of Medical Genetics Part A**, v. 146A, n. 18, p. 2318–2326, set. 2008.

SIMHA, V. *et al.* Effect of Leptin Replacement on Intrahepatic and Intramyocellular Lipid Content in Patients with Generalized Lipodystrophy. **Diabetes Care**, v. 26, n. 1, p. 30–35, jan. 2003.

SPECKMAN, R. A. *et al.* Mutational and Haplotype Analyses of Families with Familial Partial Lipodystrophy (Dunnigan Variety) Reveal Recurrent Missense Mutations in the Globular C-Terminal Domain of Lamin A/C. **The American Journal of Human Genetics**, v. 66, n. 4, p. 1192–1198, abr. 2000.

SPULER, S. *et al.* Muscle and nerve pathology in Dunnigan familial partial lipodystrophy. **Neurology**, v. 68, n. 9, p. 677–683, fev. 2007.

STUDENSKI, S. A. *et al.* The FNIH Sarcopenia Project: Rationale, Study Description, Conference Recommendations, and Final Estimates. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. 69, n. 5, p. 547–558, maio 2014.

SUKUMAR, D. *et al.* Obesity alters cortical and trabecular bone density and geometry in women. **Osteoporosis International**, v. 22, n. 2, p. 635–645, fev. 2011.

TEBOUL-CORÉ, S. *et al.* Bone imaging findings in genetic and acquired lipodystrophic syndromes: an imaging study of 24 cases. **Skeletal Radiology**, v. 45, n. 11, p. 1495–1506, nov. 2016.

THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR CLINICAL DENSITOMETRY. **ISCD Official Positions, 2019**. Disponível em: <https://iscd.org/wp-content/uploads/2021/09/2019-Official-Positions-Adult-1.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2023.

THRAILKILL, K. M. *et al.* Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 289, n. 5, p. E735–E745, nov. 2005.

TRATWAL, J. *et al.* Reporting Guidelines, Review of Methodological Standards, and Challenges Toward Harmonization in Bone Marrow Adiposity Research. Report of the Methodologies Working Group of the International Bone Marrow Adiposity Society. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, n. 65, fev. 2020.

TREIBER, G. *et al.* Lipoatrophic diabetes in familial partial lipodystrophy type 2: From insulin resistance to diabetes. **Diabetes and Metabolism**, v. 49, n. 2, mar. 2023.

UNGER, R. H. Minireview: Weapons of Lean Body Mass Destruction: The Role of Ectopic Lipids in the Metabolic Syndrome. **Endocrinology**, v. 144, n. 12, p. 5159–5165, dez. 2003.

VALERIO, C. M. *et al.* Dual-energy X-ray absorptiometry study of body composition in patients with lipodystrophy. **Diabetes Care**, v. 30, n. 7, p. 1857–1859, jul. 2007.

VALERIO, C. M. *et al.* Body composition study by dual-energy x-ray absorptiometry in familial partial lipodystrophy: finding new tools for an objective evaluation. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 4, n. 1, ago. 2012.

VASANDANI, C. *et al.* Diagnostic value of anthropometric measurements for familial partial lipodystrophy, dunnigan variety. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 105, n. 7, p. 2132–2141, jul. 2020.

VASANDANI, C. *et al.* Phenotypic Differences Among Familial Partial Lipodystrophy Due to LMNA or PPARG Variants. **Journal of the Endocrine Society**, v. 6, n. 12, out. 2022.

VESTERGAARD, P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes—a meta-analysis. **Osteoporosis International**, v. 18, n. 4, p. 427–444, fev. 2007.

VEZERIDIS, P. S. *et al.* Osteocytes subjected to pulsating fluid flow regulate osteoblast proliferation and differentiation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 348, n. 3, p. 1082–1088, set. 2006.

VIGOUROUX, C. *et al.* Lamin A/C gene: sex-determined expression of mutations in Dunnigan-type familial partial lipodystrophy and absence of coding mutations in congenital and acquired generalized lipodystrophy. **Diabetes**, v. 49, n. 11, p. 1958–1962, nov. 2000.

VIRTUE, S.; VIDAL-PUIG, A. It's Not How Fat You Are, It's What You Do with It That Counts. **PLoS Biology**, v. 6, n. 9, p. e237, set. 2008.

WALOWSKI, C. O. *et al.* Determinants of bone mass in older adults with normal- and overweight derived from the crosstalk with muscle and adipose tissue. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, p. 5030, dez. 2023.

WALSH, J. S. *et al.* Free 25-hydroxyvitamin D is low in obesity, but there are no adverse associations with bone health. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 103, n. 6, p. 1465–1471, jun. 2016.

WAN, Y.; CHONG, L. W.; EVANS, R. M. PPAR- γ regulates osteoclastogenesis in mice. **Nature Medicine**, v. 13, n. 12, p. 1496–1503, dez. 2007.

WANG, J. *et al.* Quantitative evaluation of bone marrow fat content and unsaturated fatty index in young male soccer players using proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS): A preliminary study. **Quantitative Imaging in Medicine and Surgery**, v. 11, n. 10, p. 4275–4286, out. 2021.

- WEI, S. *et al.* IL-1 mediates TNF-induced osteoclastogenesis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 2, p. 282–290, fev. 2005.
- WOODS, G. N. *et al.* Greater Bone Marrow Adiposity Predicts Bone Loss in Older Women. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 35, n. 2, p. 326–332, fev. 2020.
- WOODS, G. N. *et al.* Saturated and Unsaturated Bone Marrow Lipids Have Distinct Effects on Bone Density and Fracture Risk in Older Adults. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 37, n. 4, p. 700–710, abr. 2022.
- WORMAN, H. J.; BONNE, G. “Laminopathies”: A wide spectrum of human diseases. **Experimental Cell Research**, v. 313, n. 10, p. 2121–2133, jun. 2007.
- XUE, Y. *et al.* Lumbar Spine Trabecular Bone Score (TBS) Reflects Diminished Bone Quality in Patients with Diabetes Mellitus and Oral Glucocorticoid Therapy. **Journal of Clinical Densitometry**, v. 21, n. 2, p. 185–192, abr. 2018.
- YEUNG, D. K. W. *et al.* Osteoporosis is associated with increased marrow fat content and decreased marrow fat unsaturation: A proton MR spectroscopy study. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 22, n. 2, p. 279–285, ago. 2005.
- YU, E. W. *et al.* Marrow adipose tissue composition in adults with morbid obesity. **Bone**, v. 97, p. 38–42, abr. 2017.
- ZANATTA, L. C. B. *et al.* Association between undercarboxylated osteocalcin, bone mineral density, and metabolic parameters in postmenopausal women. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 62, n. 4, p. 446–451, ago. 2018.
- ZHANG, Y. *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425–432, dez. 1994.
- ZHAO, L.-J. *et al.* Relationship of Obesity with Osteoporosis. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 5, p. 1640–1646, maio 2007a.
- ZHAO, L.-J. *et al.* Correlation of Obesity and Osteoporosis: Effect of Fat Mass on the Determination of Osteoporosis. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 23, n. 1, p. 17–29, set. 2007b.

ZHOU, H. *et al.* Increasing fasting glucose and fasting insulin associated with elevated bone mineral density—evidence from cross-sectional and MR studies. **Osteoporosis International**, v. 32, n. 6, p. 1153–1164, jan. 2021.

ZHU, L. *et al.* Marrow adiposity as an indicator for insulin resistance in postmenopausal women with newly diagnosed type 2 diabetes – an investigation by chemical shift-encoded water-fat MRI. **European Journal of Radiology**, v. 113, p. 158–164, abr. 2019.

ZHU, Z.-N.; JIANG, Y.-F.; DING, T. Risk of fracture with thiazolidinediones: An updated meta-analysis of randomized clinical trials. **Bone**, v. 68, p. 115–123, nov. 2014.

9. Anexos

ANEXO A – Declaração de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Ribeirão Preto, 06 de dezembro de 2018.

Ofício nº 3474/2018
CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 12352/2018

Prezados Pesquisadores,

O trabalho intitulado "**A RELAÇÃO ENTRE OS TECIDOS ADIPOSEO E ÓSSEO EM INDIVÍDUOS COM LIPODISTROFIA DE DUNNIGAN**", foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 482ª Reunião Ordinária realizada em 03/12/2018, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e para Guarda de Material Biológico Versão 2.0 data 19.11.18.**

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Resolução nº 466/2012 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRA. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
COORDENADORA DO COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DO HCRP E DA FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores

MARIANA LIMA MASCARENHAS MOREIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO JOSÉ ALBUQUERQUE DE PAULA

COLABORADORES: PROF. DR. MARCELLO HENRIQUE NOGUEIRA BARBOSA/ DR. CARLOS

ERNESTO GARRIDO SALMON/ DRA. SANDRA YASUYO FUKADA ALVES

Depto. de Clínica Médica

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO E PARA GUARDA DE
MATERIAL BIOLÓGICO**

Título da pesquisa: A relação entre os tecidos adiposo e ósseo em indivíduos com Lipodistrofia de Dunnigan

Pesquisadores responsáveis:

Pesquisador Principal: Francisco José Albuquerque de Paula

Demais Pesquisadores: Mariana Lima Mascarenhas Moreira, ou e-mail: mahmascarenhas@gmail.com

O(a) senhor(a) está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte deste estudo, assine ao final deste documento em duas vias. Caso o(a) senhor(a) não aceite participar da pesquisa, não será penalizado(a) de forma alguma e seu atendimento não será prejudicado na Instituição.

O objetivo da pesquisa é avaliar diversos aspectos e características do tecido ósseo e do tecido adiposo em pessoas com Lipodistrofia de Dunnigan.

Caso concorde em participar, o (a) senhor(a) fará uma coleta de sangue para exames que fazem parte desta pesquisa. Esses exames incluem: glicemia de jejum, hemoglobina glicada, insulina, leptina, quemerina, irisina, miostatina, ureia, creatinina, TGO, TGP, fósforo inorgânico, fosfatase alcalina, paratormônio (PTH), vitamina D, cálcio total, albumina, osteocalcina e telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo 1, análise molecular e diferenciação de células ósseas. A picada da agulha vai doer um pouco e poderá acontecer um pequeno hematoma no local da punção. A quantidade de sangue retirada vai ser o equivalente a cinco colheres de sopa. A coleta de sangue para esses exames será feita uma única vez.

Caso o (a) senhor (a) desistir de participar da pesquisa, NÃO terá nenhum prejuízo de seu atendimento regular nas unidades de saúde.

Esperamos que no futuro, estes resultados possam beneficiar outros pacientes

Fazer parte deste estudo é uma escolha sua. Você pode escolher não participar ou pode deixar de participar do estudo a qualquer momento. Deixar de participar do estudo não resultará em nenhuma penalidade ou perda de benefícios que o (a) senhor (a) tem direito.

Será mantido sigilo absoluto dos dados obtidos individualmente neste estudo, para assegurar a privacidade dos participantes. Caso o(a) senhor(a) se sinta prejudicado em participar desta pesquisa, o(a) senhor(a) poderá buscar indenização de acordo com as normas vigentes no país.

Os pesquisadores estarão disponíveis para qualquer dúvida a qualquer momento durante o estudo e o sr. (a) tem a garantia de acesso aos resultados da pesquisa.

Caso tenha dúvidas sobre aspectos éticos desta pesquisa o(a) senhor(a) também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da faculdade de Medicina de Ribeirão Preto pelo telefone (16) 3602-2228.

Esta pesquisa está vinculada ao biorrepositório **Laboratório de Metabolismo Mineral** criado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – USP com o objetivo de guardar amostras de soro para dosagens que serão feitas durante o estudo para fins de pesquisa e análise científica, visto que esses materiais não serão todos avaliados em um único momento e algumas análises serão realizadas em dois períodos diferentes ao longo do projeto.

Gostaríamos de convidá-lo (a) a autorizar a coleta, o depósito, o armazenamento e a utilização do material biológico humano de sangue para fins de pesquisa e análise científica.

Este material será coletado através punção venosa dos pacientes e controles do estudo, em um único momento. Após coletado será guardado em biorrepositório em freezer a – 70°C no Laboratório de Metabolismo Mineral, localizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP, fone de contato (16)3602-1000 e utilizado para posterior análise ao longo do projeto.

As amostras serão armazenadas até a publicação dos resultados e após o término do estudo serão desprezadas. Os pesquisadores responsáveis pela equipe se comprometem a identificar as amostras e os dados coletados de modo que garanta o seu sigilo e a sua confidencialidade, para isso a sua amostra de sangue será identificada por meio de numeração e código LDN001 a LDN070.

Quanto ao material, a quantidade de sangue a ser retirada vai ser o equivalente a cinco colheres de sopa. Em decorrência da coleta, a picada da agulha vai doer um pouco e poderá acontecer um pequeno hematoma no local da punção, porém essa coleta é realizada somente uma vez.

Sua participação é voluntária, tendo liberdade de aceitar ou não que sua amostra seja guardada, sem risco de qualquer penalização ou prejuízo no atendimento que lhe for prestado. O (A) Sr. (a) também tem o direito de retirar seu consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado a qualquer momento.

Solicitamos também os dados de contato do(a) senhor(a), para que seja possível encontrá-lo(a) posteriormente. Através dos contatos, garantimos fornecer as informações de seu interesse, além de receber eventuais benefícios provenientes do estudo com seu material biológico. Também solicitaremos sua autorização, se necessário, para o descarte do material armazenado em caso de não utilização posterior das substâncias.

Declaramos para os devidos fins que a cada a nova pesquisa o Sr.(a) será contatado para a utilização do seu material biológico armazenado neste biorrepositório, e também a nova pesquisa será submetida à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) institucional e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é composto por um grupo de pessoas que são responsáveis por supervisionarem pesquisas em seres humanos que estão sendo feitas na instituição e tem a função de proteger e garantir os direitos, a segurança e o bem-estar de todos os participantes de pesquisa que se voluntariam a participar da mesma. O CEP do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto está localizado no Subsolo do Hospital e funciona das 8:00 às 17:00. O telefone de contato é o (16) 3602-2228

Solicitamos seus dados de contato e sua assinatura, tendo recebido as informações acima, para confirmação de aceitação de participação. Também afirmamos que uma via deste documento, devidamente assinada e rubricada, será entregue ao senhor (a).

Dados do participante:

Nome: _____, RG: _____,
Endereço: _____, nº _____,
Bairro _____, cidade _____, telefone _____

Abaixo também seguem os dados de contato do pesquisador responsável, caso o(a) senhor(a) tenha alguma dúvida posteriormente.

Nome do participante: _____

Assinatura: _____ data: _____

Nome do participante: _____

Assinatura: _____ data: _____

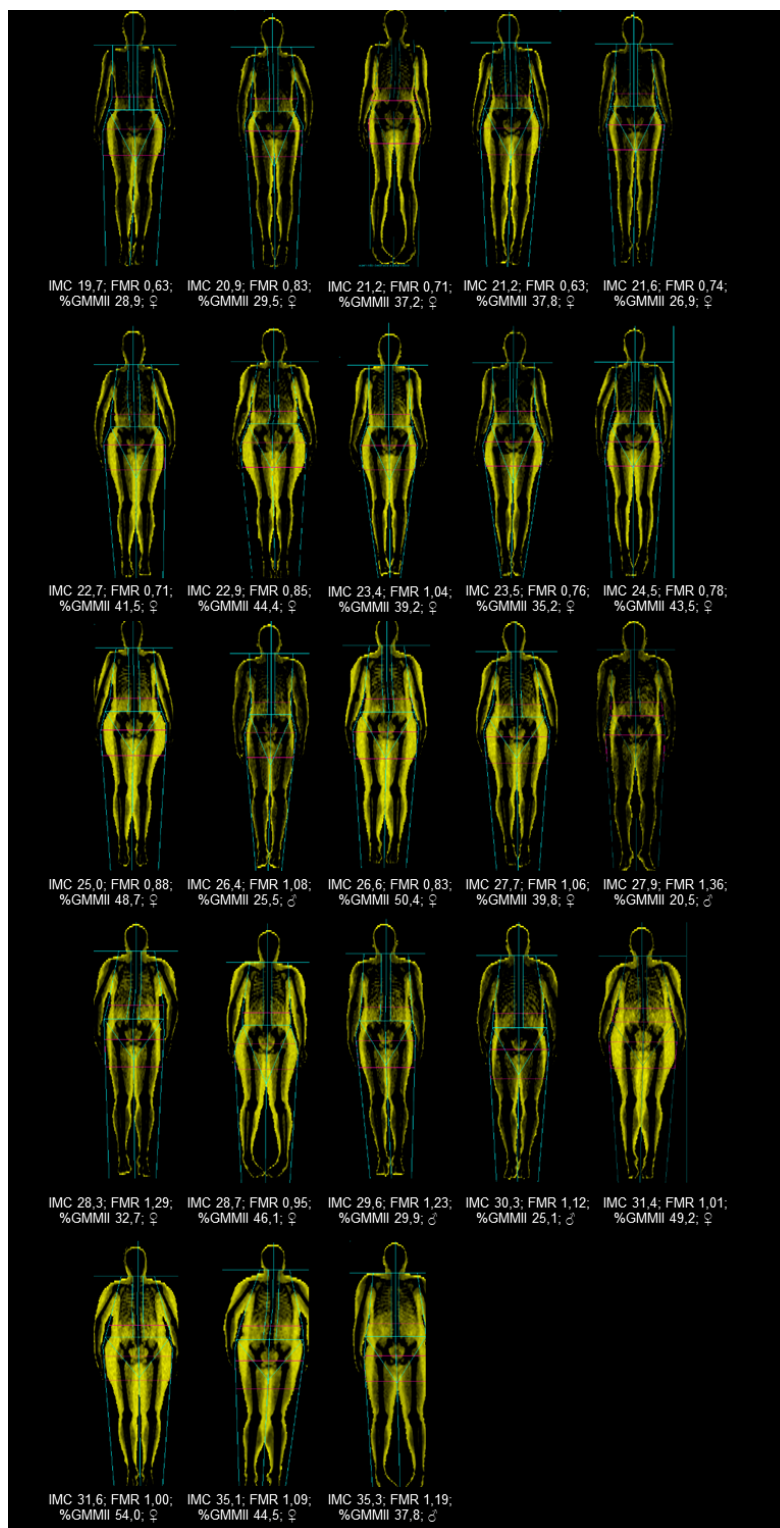
Dados do responsável legal ou testemunha (caso aplicável):

Nome legível: _____

Assinatura: _____ data: _____

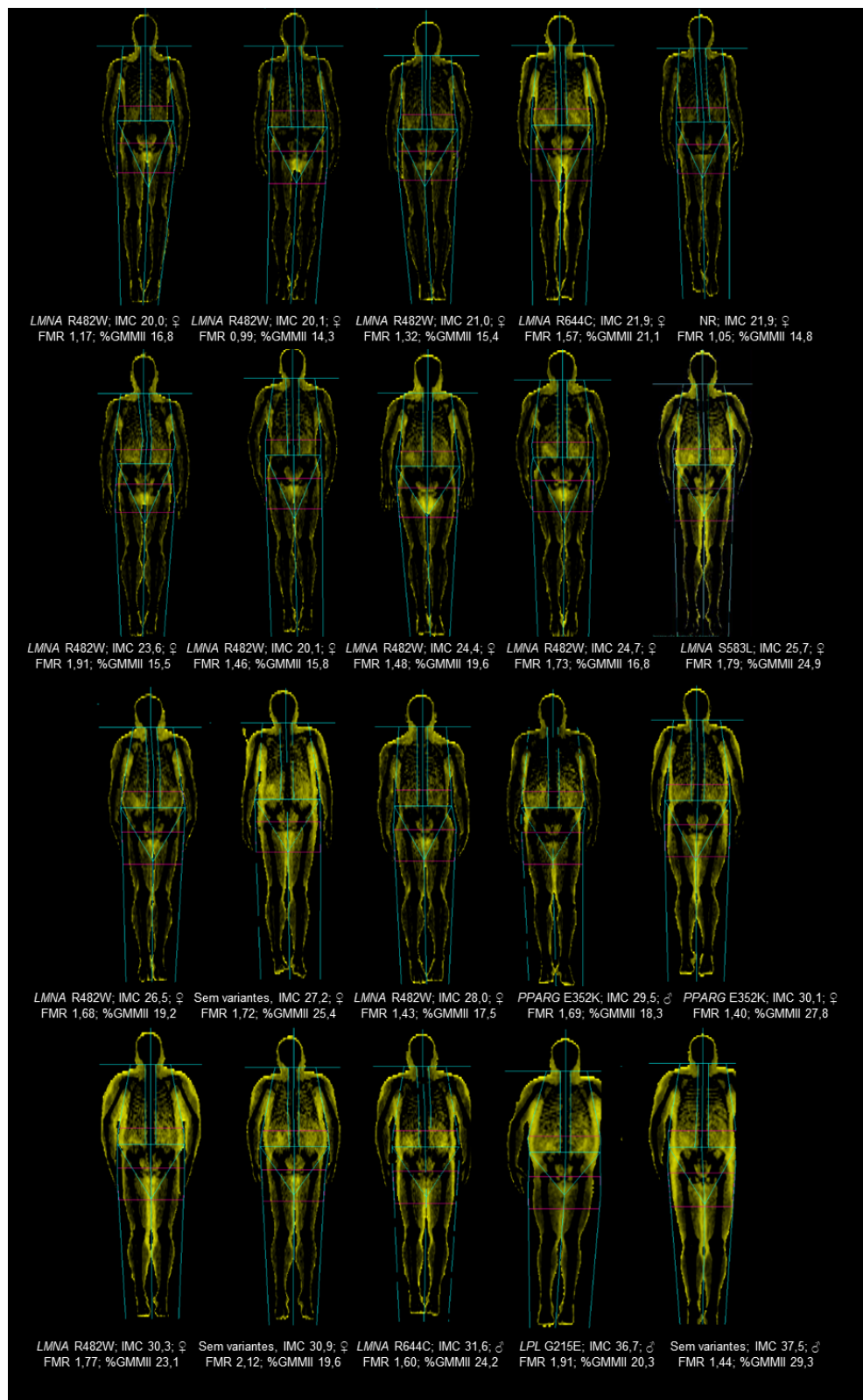
10. Apêndices

APÊNDICE A – Sombras de gordura (Fat Shadows), obtidas por meio da densitometria óssea do grupo controle, em ordem crescente de IMC e descrição de Fat Mass Ratio, percentual de gordura em membros inferiores e sexo



FMR – fat mass ratio; %GMMII: % gordura em membros inferiores. Fonte: elaborado pela autora (2023)

APÊNDICE B – Sombras de gordura, obtidas por meio da densitometria óssea dos pacientes incluídos no grupo LPF, em ordem crescente de IMC e descrição de tipo de mutação, Fat Mass Ratio, sexo e percentual de gordura em membros inferiores



FMR – fat mass ratio; %GMMII: % gordura em membros inferiores. Fonte: elaborado pela autora (2023)

APÊNDICE C – Correlação entre adipocinas e variáveis bioquímicas

	ρ	p
Quemerina x vitamina D	-0,05	0,77
Quemerina x PTH	-0,02	0,90
Quemerina x Fósforo	0,18	0,27
Quemerina x Cálcio	0,07	0,70
Quemerina x Osteocalcina	-0,23	0,17
Leptina x vitamina D	0,09	0,61
Leptina x PTH	0,20	0,22
Leptina x Fósforo	-0,04	0,83
Leptina x Cálcio	-0,22	0,18
Leptina x Osteocalcina	-0,11	0,52

APÊNDICE D – Correlação entre HOMA-IR, insulina e densidade mineral óssea

	ρ	p
HOMA-IR x DMO L1-L4	-0,16	0,36
HOMA-IR x DMO QT	0,01	0,93
HOMA-IR x DMO CF	0,07	0,70
HOMA-IR x DMO rádio 33%	-0,04	0,83
Insulina x DMO L1-L4	-0,17	0,33
Insulina x DMO QT	-0,02	0,92
Insulina x DMO CF	0,05	0,78
Insulina x DMO rádio 33%	0,01	0,96

Abreviações: HOMA-IR – Homeostase Model Assessment; DMO – densidade mineral óssea

APÊNDICE E – Correlação entre osteocalcina e variáveis bioquímicas relacionadas ao metabolismo mineral ósseo

	ρ	p
Osteocalcina x vitamina D	0,31	0,05
Osteocalcina x PTH	0,29	0,07
Osteocalcina x Fósforo	-0,03	0,85
Osteocalcina x Cálcio	0,02	0,92
Osteocalcina x Fosfatase	-0,02	0,90

APÊNDICE F – Correlação entre leptina, vitamina D, PTH e densidade mineral óssea

	ρ	p
Leptina x DMO L1-L4	-0,16	0,36
Leptina x DMO QT	0,01	0,93
Leptina x DMO CF	0,07	0,70
Leptina x DMO rádio 33%	-0,04	0,83
Vitamina D x DMO L1-L4	-0,01	0,93
Vitamina D x DMO QT	-0,09	0,57
Vitamina D x DMO CF	-0,08	0,61
Vitamina D x DMO rádio 33%	0,06	0,71
PTH x DMO L1-L4	0,04	0,79
PTH x DMO QT	0,13	0,41
PTH x DMO CF	0,25	0,12
PTH x DMO rádio 33%	0,35	<0,05

Abreviações: HOMA-IR – Homeostase Model Assessment; DMO – densidade mineral óssea

APÊNDICE G – Correlação entre osteoclastogênese, quemerina, leptina, DMO, TBS, TAMO e IMCL/EMCL

	ρ	p
Área (M-CSF+RANKL) x leptina	0,08	0,73
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x leptina	0,18	0,46
Área (M-CSF+RANKL) x TBS	0	0,98
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x TBS	0,41	0,08
Área (M-CSF+RANKL) x TAMO coluna total	0,14	0,58
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x TAMO coluna	0,11	0,69
Área (M-CSF+RANKL) x IMCL	0,47	0,05
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x IMCL	0,42	0,08
Área (M-CSF+RANKL) x EMCL	-0,04	0,86
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x EMCL	-0,14	0,59
Área (M-CSF+RANKL) x IMCL/EMCL	0,47	0,05
Área (M-CSF+RANKL+quemerina) x IMCL/EMCL	0,4	0,10

Abreviações: M-CSF – fator estimulado de colônia de macrófagos; RANKL – ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa β ; TBS – score trabecular ósseo; IMCL/EMCL – intra/extramiocelular