

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HEPATOLOGIA**

João Alfredo Diedrich Neto

**Comparação Da Gravidade Da
Doença Hepática Gordurosa Não
Alcoólica De Pacientes Obesos
Diabéticos E Não Diabéticos.**

UFCSPA

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2019**

João Alfredo Diedrich Neto

Comparação Da Gravidade Da Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica De Pacientes Obesos Diabéticos E Não Diabéticos.

Dissertação a ser submetida ao
Programa de Pós-
Graduação em Hepatologia da
Fundação Universidade
Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre como requisito
para a obtenção do grau de
Mestre

Orientador: Prof Dr. Paulo Roberto
Ott Fontes

**Porto Alegre
2019**

Catálogo na Publicação

Diedrich Neto, João Alfredo
Comparação da Gravidade da Doença Hepática Gordurosa
não Alcoólica de Pacientes Obesos Diabéticos E Não
Diabéticos / João Alfredo Diedrich Neto. -- 2019.
68 f. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de
Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, 2019.

Orientador(a): Paulo Roberto Ott Fontes.

1. Doença hepática gordurosa não alcoólica. 2.
Obesidade Mórbida. 3. Biópsia Hepática. I. Título.

*Aos meus pais, Claudionor e Leonida.
À minha esposa, Gabriela*

AGRADECIMENTOS

A todos os professores do programa de Pós-Graduação em Hepatologia da UFCSPA.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Roberto Ott Fontes, por tudo o que conseguiu me ensinar, pela sua perseverança com todos os seus alunos e residentes.

Aos professores Dr. Fabio Waechter, Dr. José Artur Sampaio e Dr. Luiz Pereira Lima, que juntos com o Dr. Fontes, foram professores presentes em minha vida por quase uma década. Lembrando Newton, "Se vi mais longe foi por estar em pé sobre ombros de gigantes".

Aos amigos e mestres em cirurgia bariátrica Dr. Guillermo Kiss e Dr. Sérgio Pioner, pela grata surpresa que foram em minha vida, por todas as oportunidades, por disponibilizarem os casos para esse estudo.

Aos colegas de Pós-Graduação, em especial ao Marcos Bertozzi Goldoni, por dividir as angústias e vitórias da nossa difícil jornada.

Ao meu colega, Ariel Dutra Lopes, pela ajuda na coleta dos dados.

A todos os colegas de residência em Cirurgia do Aparelho Digestivo.

À secretária da Pós-Graduação, Luciani Spencer, pelo carinho e pela ajuda ímpar.

Aos pacientes, motivo maior disso tudo.

À Marlei Diedrich, pelo exemplo, companheirismo e ajuda na revisão desse trabalho.

Aos meus pais, Claudionor e Leonida, os meus primeiros professores e, certamente, os mais hábeis. Agradeço imensamente por terem me ensinado a beleza do amor e o valor do trabalho.

À minha esposa, Gabriela, por encher a minha vida de alegria e ser meu motivo de voltar para casa todos os dias. Agradeço a beleza do seu sorriso e o brilho do seu olhar.

RESUMO

Introdução: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) apresenta um amplo espectro de alterações histopatológicas, desde a esteatose até a cirrose hepática. A literatura sugere que pacientes com diabetes melito (DMT2), por sua relação na fisiopatologia, têm risco aumentado para incidência e gravidade dessa doença. **Objetivo:** O objetivo principal deste estudo foi determinar a prevalência e a gravidade da DHGNA em pacientes obesos diabéticos e não diabéticos submetidos à cirurgia bariátrica. Também foram analisados e comparados os dados epidemiológicos e demográficos, parâmetros clínicos e laboratoriais. **Pacientes e Métodos:** Todos os pacientes elencados submeteram-se à cirurgia bariátrica pela mesma equipe cirúrgica, na Santa Casa de Porto Alegre, no período de 2016 a 2018. Realizou-se a avaliação das biópsias hepáticas através do *NAFLD activity score* (NAS) para avaliação quanto ao grau de esteatose hepática, à presença de balonização, à atividade da inflamação e ao grau de fibrose. **Resultados:** Foram observados 154 pacientes submetidos à cirurgia bariátrica com biópsia transoperatória concomitante, divididos em duas faixas de IMC, de 35 a 44.9 e de 45 a 54.9. Não houve complicação relacionada com a biópsia hepática. Dos 154 pacientes, 32 (20,8%) eram diabéticos e 122 (79,2%) eram não diabéticos. Os pacientes com DMT2 eram significativamente mais velhos que os pacientes sem a doença, $41,29 \pm 9,40$ anos vs $36,71 \pm 10,13$ anos, no grupo com IMC de 35 a 44.9 ($p=0,049$) e $45,13 \pm 7,10$ anos vs $37,00 \pm 9,24$ anos no grupo com IMC de 45 a 54.9 ($p=0,024$). Além disso, neste último grupo, observou-se associação significativa dos pacientes diabéticos com a presença de hipertensão arterial sistêmica (HAS) ($p=0,033$). Na avaliação histológica realizada, os pacientes com DMT2 do grupo com IMC de 35 a 44.9 apresentaram forte associação com maior prevalência e gravidade de esteatose, balonização, inflamação, fibrose e esteato-hepatite. **Conclusão:** Os dados deste estudo confirmam prevalência elevada de DHGNA em pacientes com Obesidade Mórbida. A prevalência e a gravidade aumentam proporcionalmente ao IMC. Pacientes de uma mesma faixa de IMC que possuam DMT2 como comorbidade apresentam maior prevalência e gravidade da doença, sugerindo sua associação com a síndrome metabólica.

Palavras-chaves: Doença hepática gordurosa não alcoólica; Obesidade Mórbida; biópsia hepática.

ABSTRACT

Introduction: Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) presents a broad spectrum of histopathological alterations, from steatosis to liver cirrhosis. Literature suggests that patients with diabetes mellitus (DM) present increased incidence and severity of NAFLD, due to their relationship in pathophysiology.

Objective: The aim of this study was to determine the prevalence and severity of NAFLD in diabetic and non-diabetic obese patients undergoing bariatric surgery. In addition, epidemiological, demographic, clinical and laboratory data were analyzed and compared.

Method: All patients have undergone bariatric surgery performed by the same surgical team at Santa Casa de Porto Alegre, from 2014 to 2018. The evaluation of liver biopsies was carried out through NAFLD activity score (NAS) in order to evaluate degree of hepatic steatosis, presence of Ballooning, inflammatory activity and degree of fibrosis.

Results: A total of 154 patients who have undergone bariatric surgery with intraoperative biopsy were observed and divided into two BMI ranges: from 35 to 44.9 and from 45 to 54.9. There was no complication related to liver biopsy. 32 (20.8%) from 154 patients were diabetic and 122 (79.2%) were non-diabetic. Patients with DM were significantly older than patients without the disease, presenting 41.29 ± 9.40 years vs 36.71 ± 10.13 years in the group with BMI of 35 to 44.9 ($p = 0.049$); and 45.13 ± 7.10 years vs 37.00 ± 9.24 years in the group with BMI of 45 to 54.9 ($p = 0.024$), besides it was observed a significant association of diabetic patients with systemic arterial hypertension (SAH) in the latter group ($p = 0.033$). In the histological evaluation, patients with DM from the BMI group of 35 to 44.9 had a strong association with higher prevalence and severity of steatosis, ballooning, inflammation, fibrosis and steatohepatitis.

Conclusion: Present study confirm the high prevalence of NAFLD in patients with Morbid Obesity. Prevalence and severity increase proportionally to BMI. Patients with the same BMI range, who have DM as comorbidity, present a higher prevalence and severity of NAFLD, suggesting its association with metabolic syndrome.

Key-Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Morbid Obesity; hepatic biopsy.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Componentes diagnósticos da Síndrome Metabólica.	17
Tabela 2- Diferenças entre inflamação clássica e inflamação de baixo grau	26
Tabela 3- Causas de esteatose hepática secundárias	27
Tabela 4- Fórmula do NAFLD Fibrosis Score (NFS)	34
Tabela 5- Indicações e contra-indicações da biópsia hepática na Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica	35
Tabela 6- Escore de atividade da Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica (NAFLD activity score)	36
Tabela 7- Escore SAF	37
Tabela 8- Dados antropométricos e prevalência de HAS	62
Tabela 9- Exames laboratoriais.	63
Tabela 10- Avaliação histológica dos pacientes com índice de massa corporal de 35 a 44.9.	63
Tabela 11- Avaliação histológica dos pacientes com índice de massa corporal de 45 a 54.9.	65

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1- Mecanismos de exacerbação da inflamação de baixo grau.	26
Figura 2- Anatomia do sinusóide hepático normal: Ilustrações e fotomicrografia.	28
Figura 3- Alterações histológicas que caracterizam a Esteato-hepatite não alcoólica.	29
Figura 4- Representação esquemática: 1-gastrectomia vertical; 2-Bypass gástrico em y-de-Roux.	41
Figura 5- Metodologia da biópsia hepática e aspecto transoperatório.	60
Gráfico 1- Avaliação histológica dos pacientes com índice de massa corporal de 35 a 44.9.	64
Gráfico 2- Avaliação histológica dos pacientes com índice de massa corporal de 45 a 54.9	65

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGE - produtos finais de glicosilação avançada
ALT - alanina aminotransferase
AST - aspartato aminotransferase
CHC - Carcinoma Hepatocelular
DAMP - padrões moleculares associados ao dano
DHGNA - doença hepática gordurosa não alcoólica
EH - esteatose hepática
EHNA - esteato-hepatite não alcoólica
GLUT - proteínas transportadoras de glicose
HAS - hipertensão arterial sistêmica
IL - interleucina
IMC - índice de massa corporal
ISCMPA - Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre
LDL - lipoproteínas de baixa densidade
MCP-1 - proteína quimioatraente de macrófagos
MIF-1- fator inibitório da migração de macrófagos
NAFLD- Non-alcoholic fatty liver disease
NAS- Non-alcoholic fatty liver disease fibrose score,
PAF - fator ativador de plaquetas
PAMP - padrões moleculares associados a patógenos
PCR - proteína c-reativa
PRR - receptores de reconhecimento de padrões
RANTES - proteína de ativação de linfócitos T
RI- resistência insulínica
SM - síndrome metabólica
TLR - receptores do tipo Toll
TNF- α - fator de necrose tumoral alfa
VHC - vírus da hepatite C

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	12
1.1 DEFINIÇÕES E CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	12
1.1.1 A EPIDEMIOLOGIA DA DHGNA.....	13
1.1.2 OS FATORES DE RISCO.....	13
1.1.3 COMPLICAÇÕES CARDIOVASCULARES DA DHGNA.....	14
1.1.4 COMPLICAÇÕES HEPÁTICAS DA DHGNA.....	14
1.2 A INFLAMAÇÃO DE BAIXO GRAU.....	15
1.2.1 SÍNDROME METABÓLICA E A INFLAMAÇÃO DE BAIXO GRAU.....	15
1.2.2 INFLAMAÇÃO NO TECIDO ADIPOSEO VISCERAL.....	17
1.2.3 ATIVAÇÃO DE RECEPTORES DE RECONHECIMENTO DE PADRÕES.....	18
1.2.4 INFLAMAÇÃO SISTÊMICA DE BAIXO GRAU, DISLIPIDEMIA E ATEROGÊNESE.....	19
1.2.5 INFLAMAÇÃO SISTÊMICA DE BAIXO GRAU E DIABETES MELLITUS	21
1.2.6 A HIPERTENSÃO ARTERIAL E OS MÚLTIPLOS MECANISMOS INFLAMATÓRIOS.....	22
1.2.7 DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA E INFLAMAÇÃO.....	23
1.3 FISIOPATOLOGIA DA DHGNA.....	26
1.3.1 HISTOLOGIA NA DHGNA.....	26
1.3.2 PATOGÊNESE DO DESENVOLVIMENTO DA DHGNA.....	28
1.4 DIAGNÓSTICO DA DHGNA.....	31
1.4.1 RASTREAMENTO DE DHGNA.....	31
1.4.2 EXAMES LABORATORIAIS.....	31
1.4.3 RADIOLOGIA.....	32
1.4.4 ESCORES CLÍNICOS.....	32
1.4.5 BIÓPSIA HEPÁTICA.....	33
1.5 TRATAMENTO.....	37
1.5.1 MUDANÇA DE ESTILO DE VIDA.....	37
1.5.2 TRATAMENTO MEDICAMENTOSO.....	38
1.5.3 TRATAMENTO CIRÚRGICO.....	39

2 JUSTIFICATIVA.....	42
3. OBJETIVOS.....	43
3.1 OBJETIVO GERAL.....	43
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	43
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
5 ARTIGO.....	55

1- INTRODUÇÃO

1.1 DEFINIÇÕES E CONSIDERAÇÕES GERAIS

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada por acúmulo de triglicerídeos nos hepatócitos, podendo levar a um incremento da massa hepática e 5-10% do peso¹ em indivíduos que não consomem álcool em excesso. Para a caracterização da DHGNA deve ser considerado como fator de exclusão o consumo significativo de álcool, maior do que 140g/semana para os homens ($\pm$ 21 doses) e 70g/semana para mulheres ($\pm$ 14 doses).

A esteatose hepática (EH) é a alteração patológica inicial na DHGNA e é representada por acúmulo citoplasmático de gotas lipídicas, principalmente triglicerídeos, nos hepatócitos. O ponto de corte de 5% de massa hepática composta por lipídeos é o fator definidor para diferenciar as esteatoses patológica e fisiológica².

Apresenta graus diferentes de alterações histológicas, sendo dividida em esteatose hepática simples e esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), forma mais grave, com presença de reação inflamatória, dano hepatocelular, balonização dos hepatócitos, com ou sem os variados graus de fibrose³. As alterações histológicas descritas podem estar acompanhadas com alteração de função hepática ou mesmo alteração das transaminases⁴.

Tal qual utilizado na definição da hepatite C na década de 80 – chamada de hepatite não A não B – o termo doença hepática gordurosa não alcoólica é vago e de definição imprecisa. Nessa linha de pensamento, alguns autores já sugerem uma atualização e definições mais modernas. Como, inequivocamente, a DHGNA está englobada no conjunto de patologias e alterações relacionadas à síndrome metabólica (SM), relação que é discutida na sequência, a sugestão da definição dessa patologia como *Doença hepática gordurosa associada ao metabolismo (DHGAM)* é bem razoável. Para a definição de EHNA sugere-se os termos *esteatohepatite metabólica associada (MASH)* ou simplesmente *hepatite crônica desmetabólica (DCH)*⁵.

Além dessas divisões clássicas, outros termos têm sido utilizados para descrever variações da DHGNA, como doença hepática alcoólica e não

alcoólica (BASH), esteatohepatite relacionada a drogas (DASH), esteatohepatite relacionada à quimioterapia (CASH) e a esteatohepatite relacionada variante p.I148M da enzima adiponutrina/PNPLA3 (PASH)⁵.

1.1.1 A EPIDEMIOLOGIA DA DHGNA

A DHGNA é o transtorno hepático mais comum no mundo, com uma prevalência relatada de 6-35%⁶. Na Europa, a prevalência média é de 25-26%⁷, com grandes variações em diferentes populações. Nos Estados Unidos a prevalência geral é cerca de 30%. Nos pacientes submetidos à biópsia hepática por qualquer motivo, 2-3% da população apresentam EHNA⁸. Já na população brasileira, a prevalência de EH é de 18%, quando avaliada por ultrassonografia ⁹.

Tal discrepância entre índices deve-se a dois fatores: o primeiro por avaliação de pacientes de populações com fatores genéticos e ambientais distintos; e o segundo, quando avaliados os pacientes da mesma população, em que os métodos de avaliação e diagnóstico da doença são distintos, como escores clínicos, dados de necropsias, biópsias hepáticas – em cunha e por agulha, métodos de imagem entre outros.

A faixa etária mais prevalente do diagnóstico de DHNA é a quarta e a quinta década de vida. A distribuição entre os sexos é equitativa, variando entre estudos de populações distintas.

1.1.2 OS FATORES DE RISCO

Os principais fatores de risco para DHGNA são os mesmos que os componentes da SM: obesidade central, EHNA, dislipidemia e resistência à insulina¹⁰. Dessa forma, a DHGNA é considerada o "componente hepático" da SM, sendo fator de risco independente para desenvolvimento da doença cardiovascular¹¹.

Os fatores de risco para progressão da EH para EHNA e cirrose são aqueles já relacionados à SM, somados à idade avançada, ao aumento das aminotransferases, ao índice de massa corporal (IMC) maior que 28 kg/m² e ao consumo elevado de álcool. O consumo de café tem sido associado a

menor risco de progressão e, curiosamente, o consumo leve de álcool pode ter efeitos benéficos^{12,13,14}.

1.1.3 COMPLICAÇÕES CARDIOVASCULARES DA DHGNA

A história natural da DHGNA é, em geral, reflexo da história natural da SM, principalmente pelo fato de que as duas patologias têm fatores causais e fisiopatologias sobrepostos. Por conseguinte, é concebível entender que as principais complicações das duas patologias também sejam afins. Sendo assim, é a doença cardiovascular, e não a hepática, a causa mais comum de morte entre os pacientes portadores dessa moléstia.

Para mais, é notável que pacientes já com EHNA apresentem risco cardiovascular aumentado com relação aos pacientes com EH simples, denotando que não só os fatores de risco comuns aos da SM, mas fatores ativos intrínsecos dessa entidade aumentam risco cardiovascular. Tal constatação sugere que esses pacientes devem ser submetidos à vigilância de doença cardiovascular de forma mais rigorosa¹⁵.

1.1.4 COMPLICAÇÕES HEPÁTICAS DA DHGNA

A respeito de óbitos relacionados à doença hepática propriamente dita, os pacientes com EHNA têm maior risco de óbitos em comparação aos pacientes com EH pura¹⁵. A progressão para cirrose ocorre em 2,5% dos pacientes com EHNA e, geralmente, é mais lenta do que em outras doenças hepáticas crônicas, ocorrendo em torno de 30 anos¹⁶.

Até 70% dos pacientes com cirrose criptogênica apresentam fatores de risco para DHGNA. Uma meta-análise que incluiu 11 estudos avaliou a progressão da fibrose em 366 pacientes com DHGNA. No geral, a fibrose progrediu em 132 (36%), manteve-se estável em 158 (46%) e melhorou em 76 (21%)¹⁷.

Os pacientes com EH simples em biópsia apresentam baixo risco de desenvolver fibrose significativa, enquanto que aqueles com EHNA estão em maior risco¹⁸.

A recorrência de DHGNA é relatada após transplante hepático, quando os fatores de risco não foram removidos e chega até a 80%¹⁹.

O Carcinoma Hepatocelular (CHC) relacionado à EHNA varia conforme a série de casos estudada de 2,4% em 7 anos, no melhor cenário, e 12,8% em 3 anos, no pior cenário, com risco de mortalidade por CHC em pacientes sem EHNA em 20 anos ao redor de 3%²⁰.

Foi demonstrado que as características clínicas, biológicas e a sobrevida do CHC relacionado à EHNA são semelhantes aos CHC relacionados ao vírus da hepatite C (VHC). Os CHC relacionados EHNA, no entanto, são diagnosticados mais tardiamente quando comparados aos CHC relacionados ao VHC e, o mais importante, os CHC relacionados à EHNA também podem desenvolver-se na ausência de cirrose, o que infere a necessidade de vigilância não apenas em pacientes com cirrose relacionada à EHNA, mas também com risco de desenvolver CHC com alto grau de fibrose e em populações selecionadas de alto risco, como os portadores de SM²¹.

1.2 A INFLAMAÇÃO DE BAIXO GRAU

1.2.1 SÍNDROME METABÓLICA E A INFLAMAÇÃO DE BAIXO GRAU

A expressão de Síndrome Metabólica denomina um conjunto de fatores de riscos metabólicos que se manifestam num indivíduo e aumentam nele as chances de desenvolver doenças, principalmente as patologias cardiovasculares e neoplasias²², fruto de um estado de aumento de ácidos graxos circulantes, triglicerídeos, resistência insulínica, em última instância, um estado inflamatório global. Está relacionada a fatores genéticos, ao aumento de peso - mais precisamente ao excesso de gordura visceral - e sedentarismo. O diagnóstico é dado quando três ou mais fatores dos relacionados abaixo estão presentes²³.

Tabela 1. Componentes diagnósticos da síndrome metabólica.

Componentes	Níveis
Circunferência abdominal	
Homens	>102cm
Mulheres	>88cm
Triglicerídeos	≥150mg/dL
HDL Colesterol*	
Homens	<40mg/dL
Mulheres	50mg/dL
Pressão Arterial	≥130mm Hg** ou ≥85mm Hg***
Glicemia de Jejum	≥110mg/dL

* Lipoproteínas de baixa densidade / **Pressão Arterial Sistólica / ***Pressão Arterial Diastólica

A relação entre o aumento do tecido adiposo, quando na região abdominal – obesidade central – e DHGNA e resistência insulínica é fortemente positiva, predispondo ocorrência de dislipidemia, inflamação e hipertensão arterial sistêmica, integrantes da SM. Tal associação entre essas situações clínicas e o excesso de tecido adiposo envolve mecanismos tanto metabólicos quanto inflamatórios²⁴.

As evidências que relacionam SM e a doença cardiovascular subjacente como consequências de processo inflamatório sistêmico são claras, tanto do ponto de vista clínico como experimental.²⁵ Essa inflamação sistêmica, contudo, tem diferenças importantes da resposta inflamatória clássica, sendo chamada de inflamação sistêmica de baixo grau.

Especificamente, esse estado inflamatório sistêmico se caracteriza por uma elevação nos níveis de proteína de fase aguda e citocinas de atividade inflamatória, tais como proteína c-reativa (PCR), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucinas (IL) 1 β , 6 e 17, bem como aumento da infiltração de células imunitárias como macrófagos e linfócitos T no tecido insulínico dependente²⁶.

Além disso, a inflamação sistêmica não induz lesão em tecido imunologicamente infiltrado, o que a distingue da inflamação causada pela síndrome metabólica e justifica uma alcunha para tal inflamação, chamada inflamação sistêmica de baixo grau²⁷. Durante a resposta inflamatória de baixo grau, o tecido exhibe níveis altos de fatores inflamatórios e células imunes

infiltradas e, ao mesmo tempo, não mostra alterações estruturais ou perda de suas funções primárias. Por outro lado, devido a sua relação estreita com o desenvolvimento de disfunções cardiovasculares e metabólicas no paciente com obesidade, a inflamação de baixo grau tem novas denominações, como metainflamação ou inflamação metabólica²⁸.

1.2.2 INFLAMAÇÃO NO TECIDO ADIPOSEO VISCERAL

O ponto inicial da inflamação sistêmica de baixo grau é, geralmente, a inflamação no tecido adiposo visceral. A fisiopatologia desse estágio envolve o acúmulo de ácidos graxos no interior dos adipócitos e o aumento de seu número. Isso faz com que ocorra diminuição do fluxo vascular para essas células, ocasionando hipóxia e posterior necrose. Em resposta a essas alterações, células fagocitárias iniciam processo inflamatório para a os adipócitos necróticos e, posteriormente, sua remoção. Por conseguinte, a grande quantidade de ácidos graxos armazenada nessas células exacerba processos oxidativos, como a lipoperoxidação.

Esses processos oxidativos aumentam os níveis de radicais livres de oxigênio e nitrogênio, como o superóxido e o óxido nítrico (ON), que recrutam células imunológicas da periferia para o tecido adiposo, iniciando um processo inflamatório local, aumentando os níveis de TNF- α e leptina e diminuindo os níveis de IL-10 e adiponectina²⁹.

Nessas condições de hipóxia e oxidação dos ácidos graxos, os adipócitos apresentam alterações funcionais caracterizadas por alterações no retículo endoplasmático e alterações estruturais em proteínas, o que finda por causar apoptose nessas células³⁰.

Tais eventos em conjunto – relacionados à inflamação do tecido adiposo visceral – iniciam o processo de inflamação sistêmica de baixo grau. Essa inflamação caracteriza-se do ponto de vista histológico por um infiltrado composto principalmente por macrófagos e secundariamente linfócitos T citotóxicos, com rara presença de neutrófilos. Os macrófagos rodeiam os adipócitos formando uma estrutura similar a uma coroa (do inglês, Crown-like structures).

Além das IL-1 β , IL-6, IL-17 e do TNF- α já citados, há concentração local alta de quimiocinas como a proteína quimioatraente de macrófagos (MCP-1), fator inibitório da migração de macrófagos (MIF-1) e proteína de ativação de linfócitos T (do inglês, RANTES, Regulated on activation, normal T cell Expressed and Secreted), atraindo mais macrófagos e linfócitos e perpetuando o processo de invasão imune do tecido. Além dessa ativação, que é autócrina e parácrina, sugere-se que também exista uma ativação endócrina direta, visto que esses pacientes possuem níveis séricos aumentados de citocinas, quimiocinas e monócitos^{25,26,31}.

1.2.3 ATIVAÇÃO DE RECEPTORES DE RECONHECIMENTO DE PADRÕES

As células imunológicas, principalmente macrófagos e as células dendríticas expressam um conjunto de receptores de membrana que formam parte da resposta através de estímulos internos e externos conhecidos como receptores de reconhecimento de padrões (PRR, do inglês, pattern recognition receptor) que geralmente são capazes de detectar dois tipos de moléculas distintas: os padrões moleculares associados a patógenos (PAMP, do inglês, pathogen-associated molecular patterns) e os padrões moleculares associados ao dano (DAMP, do inglês, damage-associated molecular patterns). Os PAMP são moléculas derivadas de mecanismos patógenos, e os DAMP são liberados por tecidos que sofreram algum dano. A interação entre PRR com PAMP e DAMP permite iniciar com rapidez uma resposta diante de processos infecciosos ou de dano tissular, através da ativação da resposta inflamatória ou reparação tissular.

Um dos grupos de PRR, o integrado por receptores do tipo Toll (TLR, do inglês, tool-like receptor), é o principal grupo no reconhecimento de PAMP e de DAMP³². Há, no mínimo, 10 tipos funcionais de TLR, os quais estão localizados na membrana celular e no citoplasma. Quando os TLR se unem aos seus ligantes desencadeiam uma cascata de sinalização celular que culmina com ativação de resposta inflamatória através da secreção de mediadores e quimiotáticos que recrutam células imunológicas aos tecidos infectados ou danificados, também relacionados à inflamação sistêmica de baixo grau relacionada à obesidade³³.

Diferente da inflamação aguda ou clássica induzida por PAMP, a resposta associada com diferentes moléculas derivadas de um estado metabólico alterado – DAMP metabólicos – conduz a uma inflamação de menor intensidade, maior duração e sistêmica³⁴.

A dislipidemia, através de ácidos graxos livres, e a hiperglicemia, pela glicosilação de proteínas, participam na polarização de macrófagos para um fenótipo pró-inflamatório e o início concomitante da inflamação sistêmica de baixo grau através da ativação dos TLR. Na dislipidemia, os ácidos graxos livres, principalmente os saturados, como o ácido palmítico, geram resposta inflamatória devido à união com o TLR-1, 2 e 6 localizados na superfície do macrófago, formando heterodímeros que unem lipopeptídeos di ou triacilados e induzem a liberação de citocinas inflamatórias³⁵.

Durante o estado hiperglicêmico, a hemoglobina, a albumina e as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são glicosiladas de forma não enzimática em resíduos de lisina e arginina e outros produtos finais de glicosilação avançada (AGE, do inglês, advanced glycation end-products). Em algumas células, como os macrófagos, os AGE são reconhecidos e se unem aos TLR-4 que está superexpresso nas enfermidades metabólicas³³. A ativação de TLR conduz a uma escala de sinalização intracelular mediada pelo fator nuclear kappa B (NF- κ B), que se transloca ao núcleo, ativa a transcrição de genes que codificam para citocinas e quimiocinas inflamatórias, tais como IL-1 β , TNF- α , promovendo uma resposta inflamatória direta à hiperglicemia.

Assim, os estados metabólicos alterados como a dislipidemia e a hiperglicemia podem induzir uma resposta inflamatória no macrófago através dos PRR, a mesma que poderia estender-se posteriormente a nível sistêmico quando esta célula migrar até o tecido insulino-dependente e alterar o microambiente de citocinas presentes no organismo.

1.2.4 INFLAMAÇÃO SISTÊMICA DE BAIXO GRAU, DISLIPIDEMIA E ATEROGÊNESE

Considera-se que a aterosclerose é a consequência de um processo inflamatório de afecção vascular, no qual a formação de uma placa obstrui parcial ou totalmente a luz arterial levando a eventos isquêmicos.

Acompanhando a inflamação sistêmica de baixo grau, a dislipidemia também é fator decisivo na aterogênese e no incremento de seus riscos cardiovasculares.

Na porção superficial das novas placas aterogênicas, as LDL oxidadas se aderem a receptores que se encontram em superfícies de macrófagos, tais como TLR-4, CD36, receptores de produtos terminais da glicosilação avançada, entre outros. Nessa interação, o macrófago realiza liberação de um complexo de proteínas com atividades inflamatórias e apoptóticas em resposta a PAMP e DAMP 21. Do mesmo modo, os ácidos graxos livres são capazes de induzir diretamente a liberação de agentes inflamatórios - já citados, IL-1 β , TNF- α - e oxidantes como o ON - na célula endotelial induzindo desacoplamento mitocondrial independente do inflamasona³⁶.

Essa cascata de eventos inflamatórios leva ao endotélio vascular a liberação intracelular de moléculas de adesão vascular. Elas favorecem o direcionamento de novos macrófagos da periferia até o endotélio e subendotélio vascular. Devido à captação de LDL, os macrófagos invasores do espaço subendotelial se transformam em células “espumosas”, evento que, junto com a migração de células musculares com alta capacidade de expressar TNF- α , IL-1 β e IL-6, é fundamental para adensamento e expansão da placa aterosclerótica e aumento do risco cardiovascular do paciente³⁷.

Por outro lado, não somente as LDL oxidadas contribuem para a aterosclerose; numerosos outros lipídeos e fosfolipídeos oxidados têm sido identificados nas placas ateroscleróticas, entre os quais o fator ativador de plaquetas (PAF, do inglês platelet activating factor), os fosfolipídeos oxidados e a lisofosfatidilcolina, que, por si mesmos, são capazes de induzir a expressão de TNF- α , IL-1 β , IL-6, TLR-2, TLR-4 e NF- κ B em macrófagos ³⁷⁻³⁸. Além disso, outras moléculas como a PCR podem depositar-se na íntima arterial e recrutar através de receptores de baixa afinidade para IgG monócitos-macrófagos periféricos com atividade inflamatória³⁹.

No mesmo sentido, diversos estudos sugerem que a IL-6 poderia desempenhar um papel importante como reguladora da lipemia, já que o bloqueio na função desse mediador inflamatório por meio de tocilizumab melhora a relação entre o colesterol total e todas as lipoproteínas de baixa densidade (HDL)⁴⁰.

Além do exposto (as LDL oxidadas estimulam processos inflamatórios e a regulação do processo aterosclerótico é regulada por moléculas inflamatórias como a PCR e a IL-6, entre outras), percebe-se em estudo tanto de modelos animais como clínicos que a aterosclerose não se desenvolve em pacientes que não tem nível significativo dessas moléculas⁴⁰, considerando-se por fim que a alteração lipídica é indutora de metainflamação e arterogênese.

1.2.5 INFLAMAÇÃO SISTÊMICA DE BAIXO GRAU E DIABETES MELLITUS

O DM2 é uma patologia multifatorial que se caracteriza por hiperglicemia crônica associada com resistência à ação de insulina e uma resposta compensatória insuficiente na secreção desse hormônio. As alterações metabólicas detectáveis clinicamente no momento diagnóstico da patologia são claramente precedidas de alterações inflamatórias sistêmicas que podem estar ativas por muitos anos antes desse diagnóstico⁴¹.

Nos pacientes que sofrem de DM2, a inflamação de baixo grau atinge a ilhota pancreática e tem um papel central. Esse processo inflamatório se dá mais especificamente na célula beta pancreática e é mediado por duas vias distintas: 1) a ativação de TLR-2 e TLR-4 por DAMP metabólicos como os AGE; e 2) a transcrição de um agregado multiproteico – chamado de inflamosoma - a partir de RNA, que promove a maturação de citocinas de inflamação e culmina em apoptose das células beta⁴².

Como resultado dessa dupla via inflamatória, há liberação parácrina de IL-6, IL-8, TNF- α e MCP-1, ativação de macrófagos insulares e recrutamento de novos monócitos e macrófagos periféricos. Outras moléculas, como IL-12 e IL-17, tem um papel importante na inflamação das ilhotas. Nesse processo, também chamado de insulinite, a célula beta pancreática torna-se mais suscetível aos efeitos do IL-1 β , pois expressa maiores níveis do receptor desta citocina inflamatória⁴³.

Essas alterações biomoleculares também surtem efeito na clínica, visto que o bloqueio dos efeitos de IL-1 β com o anticorpo monoclonal Gevokizumab resulta em melhoria na secreção do peptídeo C, diminuindo os níveis de hemoglobina glicosilada e citocinas inflamatórias em pacientes com DM2⁴⁴.

O processo de inflamação de células beta é capaz de afetar ainda outros tecidos através de uma cascata de eventos que culmina em desenvolvimento de resistência à insulina e progressão do DM2. Pela inflamação sistêmica de baixo grau, o tecido adiposo, hepático e muscular sofre infiltração de macrófagos inflamatórios produtores de TNF- α , citocina que interfere diretamente com a capacidade desses tecidos de responder à insulina. Em condições normais, a insulina se une a seu receptor localizado na superfície de adipócitos, hepatócitos e miócitos, iniciando uma cascata de sinalização intracelular mediada pelo substrato de insulina e induz a mobilização de proteínas transportadoras de glicose (do inglês, GLUT 2 e 4) para a incorporação desse açúcar no interior da célula. Quando há aumento local de TNF- α , essa ativação em cascata fica inibida por ação de vias intracelulares responsivas ao TNF- α , as mesmas que competem diretamente e inibem a fosforilação do GLUT-2 e 4. Dessa forma, esse cenário inflamatório conduz a um estado de hiperglicemia e hiperinsulinemia compensatória e culminará com sofrimento e apoptose da célula beta pancreática, insulinite, diminuição dos níveis de insulina e estabelecimento final da DM2⁴⁵.

Assim, a hiperglicemia é capaz de causar um estado de inflamação sistêmica caracterizado por ativação de macrófagos que infiltram os tecidos e elevam citocinas inflamatórias, eventos que permitem a perpetuação da inflamação sistêmica de baixo grau e suas consequências a nível metabólico.

1.2.6 A HIPERTENSÃO ARTERIAL E OS MÚLTIPLOS MECANISMOS INFLAMATÓRIOS.

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) está relacionada com doenças cerebrovasculares, cardiovasculares, insuficiência cardíaca e insuficiência renal. O fenótipo clínico da HAS é resultado de diferentes mecanismos moleculares, e a inflamação de baixo grau desempenha um papel central no espessamento arterial das camadas íntima e média causando sua rigidez e, além disso, grande disfunção endotelial.

As mudanças no perfil de expressão do endotélio vascular, como secreção de moléculas, como selectina endotelial solúvel, trombosmodulina, VCAM-1, ICAM-1 e fator de Von Willebrand⁴⁶, estão relacionadas com maior

aderência e aterogenicidade. Essas mudanças se dão como consequência do estímulo de diversos DAMP metabólicos, como os ácidos graxos, especialmente aqueles insaturados. Essas moléculas têm um efeito negativo na função endotelial ao ativar o NF- κ B e IL-6 e promover a introdução de ERO⁴².

Uma das moléculas inflamatórias mais importantes no desenvolvimento da HAS é a PCR⁴². A PCR diminui a produção de ON – por sua ação sobre a síntese de ON endotelial – e induz maior expressão de receptores tipo 1 de angiotensina na musculatura vascular lisa, favorecendo a ativação de NF- κ B por angiotensina II e liberação de TNF- α ⁴⁷. Além disso, a PCR inibe a síntese de prostaciclina, importante agente vasodilatador.

A HAS aumenta a infiltração de macrófagos nos tecidos renais, e a produção de NF- κ B e TNF- α , estando mais intensa no rim, favorece a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e participa do dano renal induzido por ela⁴⁸.

Há uma correlação positiva entre índices de massa corporal, níveis maiores de PCR e maior grau de hipertensão⁴⁹. Pacientes hipertensos que apresentam descontrole matutino tendem a ter PCR mais elevada e aumento do risco cardiovascular⁵⁰. Tais pacientes apresentam a placa de ateroma com maior atividade inflamatória, maior quantidade de macrófagos e linfócitos T infiltrados, assim como a produção de NF- κ B e TNF- α .

Dessa forma, o reconhecimento da hipertensão arterial como processo inflamatório sistêmico é fundamental para entender o desenvolvimento dessa patologia e o desenvolvimento de complicações associadas. Em síntese, a inflamação sistêmica de baixo grau participa do desenvolvimento da hipertensão, se associa com a sua gravidade e é, em algumas situações, gatilho para desenvolvimento de graves complicações.

1.2.7 DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA E INFLAMAÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), descrita por Ludwig et. al. em 1980⁵¹ como alterações hepáticas compatíveis com alto consumo de álcool em indivíduos abstêmios, inclui amplo espectro de doenças, classificadas desde a esteatose simples, esteatohepatite não alcoólica, fibrose

e cirrose⁵², e, tal qual os demais componentes da SM, tem seu cerne fisiopatológico galgado na inflamação.

Os pacientes com DHGNA, principalmente aqueles com grau avançado da doença, apresentam aumento local e plasmático de TNF- α . Esse aumento desempenha um papel fundamental na inflamação⁵³. O aumento da produção hepática de TNF- α ocorre através de uma ativação de nuclear kappa B kinase (NF-kB), radicais livres reativos de oxigênios, IL -1 β e lipopolissacarídeos. O dano ao hepatócito acompanha a produção de citocinas nas células de Kupffer, que, por sua vez, também contribuem para a elevação e a expressão de TNF- α e IL-6, aumentando o nível hepático e sistêmico de citocinas pró-inflamatórias.

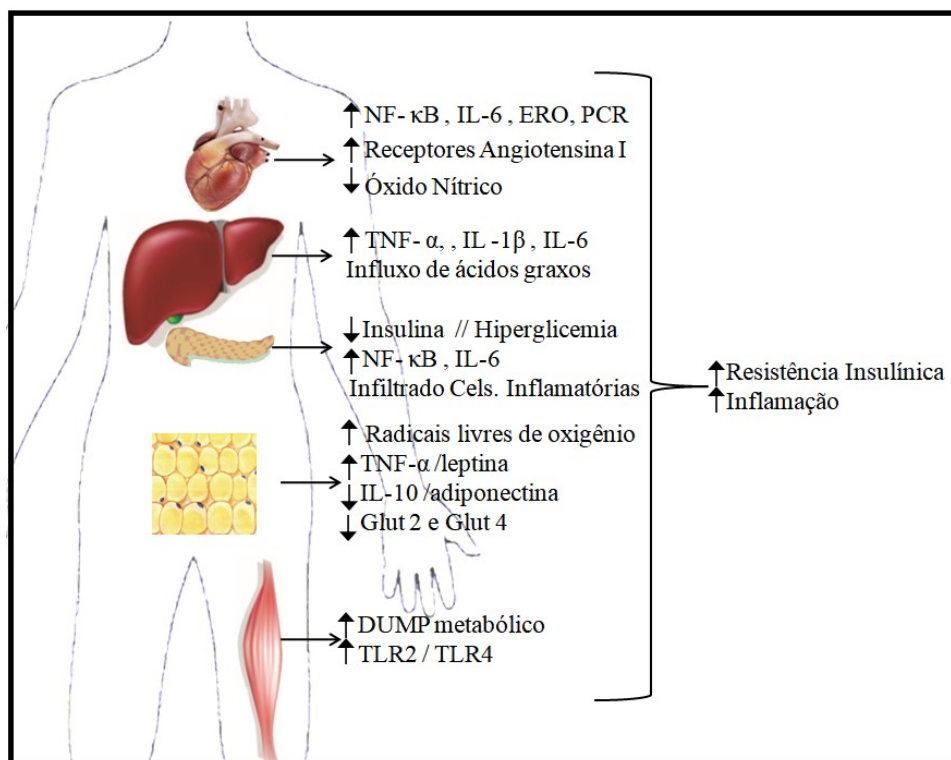
Quando associada a graus elevados de IMC e RI, essa inflamação torna-se potencialmente aumentada, começando com a incapacidade da insulina para reprimir a lipólise no tecido adiposo que invade o excesso de fluxo de ácido graxo livre (FFA) para o FFA no fígado para aumentar a oxidação β hepática. Aumentar os níveis de radicais livres de oxigênio e iniciar o dano oxidativo que exacerba a ativação de vias inflamatórias⁵⁴.

O TNF- α desenvolve a expressão de IL-6 como excitadores hepáticos principais para a produção de PCR. Há correlação positiva entre nível sérico de PCR e gravidade de DHGNA⁵⁵, bem como SM e seus componentes. A principal fonte produtora de PCR é o fígado, que, num cenário de SM e inflamação, compartilha essa produção com o tecido adiposo, particularmente a gordura visceral⁵³.

A expressão de IL-6 é marcadamente aumentada nos fígados de pacientes DHGNA e proporcional ao grau de gravidade de doença. Esse aumento parece estar relacionado com o desenvolvimento da NASH e resistência sistêmica à insulina⁵⁶. Um dos principais fatores anti-inflamatórios e protetores contra o desenvolvimento da DHGNA é a adiponectina. Ela melhora a resistência à insulina e ativa mediadores anti-inflamatórios, como a IL10 e antagonista do receptor de interleucina-1⁵⁷.

Tabela 2. Diferenças entre inflamação clássica e inflamação de baixo grau

	Inflamação clássica	Inflamação de baixo grau
Duração	Aguda/Subaguda	Crônica
Localização	Localizada	Sistêmica/Tecido Insulinodependente
Células inflamatórias	Neutrófilos, eosinófilos, células NK, linfócitos T, macrófagos	Macrófagos, linfócitos T,
Citocinas	TNF- α , IL-1 β , IL-6	TNF- α , IL-6, proteína C reativa
Ativadores	PAMP e DAMP	DAMP metabólicos
Lesão Tecidual	Presente	Ausente
Patologias Relacionadas	Colite, peritonite, síndrome da resposta inflamatória sistêmica	Dislipidemia, aterogênese, DMII, HAS

Figura 1. Mecanismos de exacerbação da inflamação de baixo grau

A tentativa de resumir vias, mecanismos, cronologia e resultados da inflamação de baixo grau e sua relação com HAS, DMII, aterosclerose, obesidade, DHGNA, SM, é *ab initio* predestinada ao fracasso. As vias e os mecanismos são incontáveis; a cronologia é variável e por vezes até reversa; tal condensação em uma só figura é sem dúvida inexecutável. A figura serve então unicamente ao propósito ilustrativo, ainda que incompleto, do resultado único e certo: um *feedback* positivo que culmina em aumento da inflamação de baixo grau e da gravidade de todas as patologias e complicações relacionadas.

1.3 FISIOPATOLOGIA DA DHGNA

1.3.1 HISTOLOGIA NA DHGNA

A esteatose hepática é dividida em duas formas morfológicas: micro e macrovesicular. A esteatose microvesicular é caracterizada pelo acúmulo de gotas de gorduras pequenas e diversas pelo citoplasma⁵⁸. Em geral é observada em condições clínicas graves como insuficiência hepática aguda da gestação, degeneração alcoólica aguda e síndrome de Reye.

O padrão macrovesicular, característico da DHGNA, é o descrito classicamente como o hepatócito que possui uma grande gota lipídica deslocando o núcleo celular para a periferia⁵⁹, mas hepatócitos com gotas médias em maior número também devem ser descritos conjuntamente, já que é frequente a união das gotas uma gota maior⁶⁰.

Tabela 3. Causas de esteatose hepática secundárias

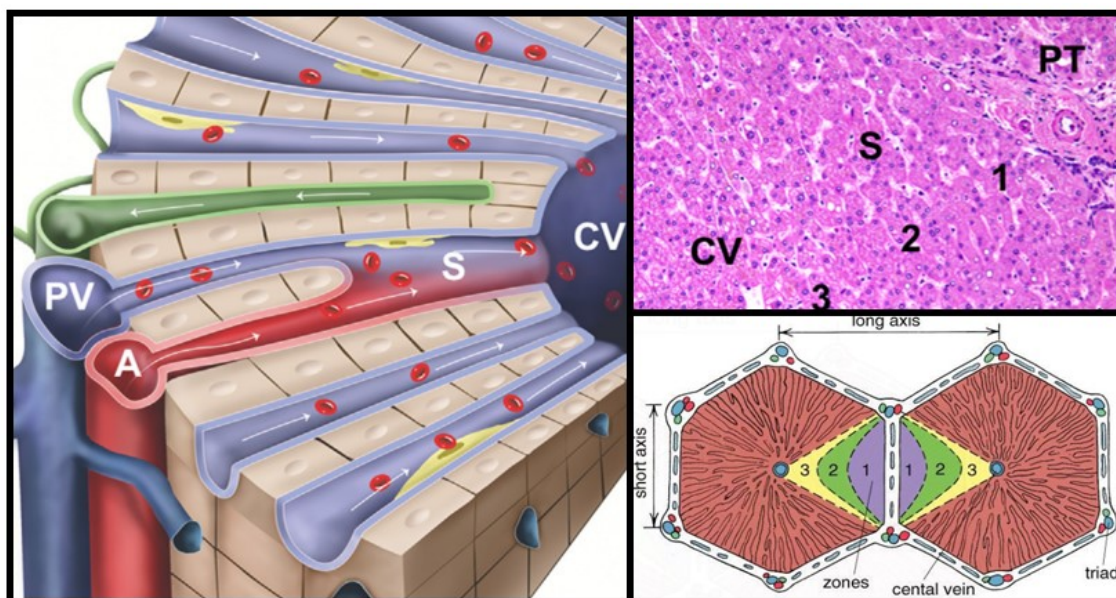
Macrovesicular	Microvesicular
Consumo excessivo de álcool	Síndrome de Reye
Hepatite C (genótipo 3)	Fígado Gorduroso da Gestação
Doença de Wilson	Síndrome HELLP
Lipodistrofia / Inanição	Erros inatos do Metabolismo
Nutrição Parenteral	
Abetalipoproteinemia	Medicações
Medicações	

* adaptado de Vernon G, Baranova A, Younossi ZM, 2011.

O padrão macrovesicular clássico da DHGNA pode estar acompanhado de esteatose microvesicular focal, quadro associado a graus mais graves da doença⁶¹.

A EHNA fica caracterizada histologicamente pela infiltração difusa de gordura, com acúmulo maior do que 5% de triglicerídeos, presença de balonização hepatocelular – condição essencial ao diagnóstico – e inflamação. A balonização e a inflamação hepatocelular têm predileção pela zona centrilobular (zona 3). Ocasionalmente podem ser encontrados os chamados Corpúsculos de Mallory⁶², que são condensações grosseiras de proteínas do citoesqueleto da célula.

Figura 2. Anatomia do sinusóide hepático normal: Ilustrações e fotomicrografia.



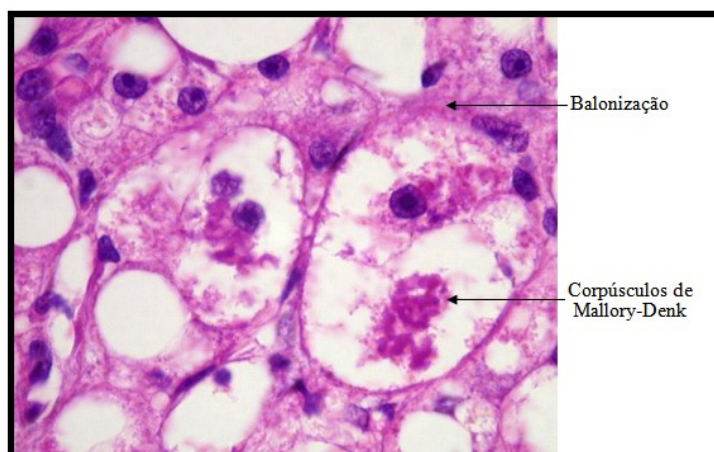
S: sinusóide hepático; CV: Veia central; PV: veia porta; A: artéria hepática;

Os números fazem referência às zonas lobulares hepáticas: Zona 1: periportal; Zona 2: médio zonal; Zona 3: centrilobular.

* Adaptado de: Furlan, Alessandro et al., 2016.

O entendimento da anatomia do sinusóide hepático, a fisiopatologia e a localização das alterações histológicas presentes na zona 3 na EHNA permitem correlacionar a zona 3, zona mais hipóxica do sinusóide hepático, sendo, portanto, mais suscetível as alterações relacionadas a stress oxidativo e inflamação de baixo grau⁵⁴.

Figura 3. Alterações histológicas que caracterizam a EHNA.



* Adaptado de <http://anatpat.unicamp.br/lamdegn5.html>.

Alguns achados, como inflamação lobular com polimorfonucleares, presença de ferro, grau de esteatose, são relatados como achados histológicos preditivos de fibrose avançada⁶³. A identificação da balonização hepatocelular ainda é realizada através da técnica de Hematoxilina-Eosina, mas a imuno-histoquímica pode servir como método auxiliar nos casos de diagnóstico mais difícil.

A fibrose parenquimatosa, mesmo não sendo parâmetro diagnóstico de NASH, é observada em mais de 80% dos pacientes. Fibrose centrizonal e pericelular/perisinusoidal são o padrão característico da doença hepática gordurosa. Nas fases iniciais os hepatócitos balonizados são encontrados predominantemente na região centrizonal (zona 3), podendo mudar o padrão de distribuição em fases mais avançadas⁶⁴.

1.3.2 PATOGÊNESE DO DESENVOLVIMENTO DA DHGNA

A fisiopatologia da DHGNA ainda não é totalmente conhecida. O modelo conceitual mais aceito no momento é a teoria dos múltiplos impactos ou múltiplos hits. O primeiro hit é representado pelo acúmulo de triglicerídeos, que faz com que o fígado fique mais vulnerável a outros insultos⁶⁵; o segundo hit, seria o início do desenvolvimento de uma resposta inflamatória (inflamação de baixo grau)⁶⁶. Em sequência a esses eventos, outros insultos se somam, como o aumento do estresse oxidativo, estresse do retículo endoplasmático,

disfunção mitocondrial e endotoxemia crônica. Esse fígado esteatótico se tornaria vulnerável a esses múltiplos impactos (múltiplos hits), levando à lesão hepatocelular, inflamação e fibrose.

A dislipidemia e a RI têm forte associação com a deposição exagerada de triglicerídeos nos hepatócitos⁶⁷, o já citado componente hépático da SM. Esse acúmulo de lipídeo está associado a aumento da gliconeogênese, diminuição da síntese de glicogênio, o que faz com que a RI fique mais exacerbada, ocorra um aumento da inflamação de baixo grau, levando a progressão da doença hepática para fibrose, cirrose e aumentando o risco de hepatocarcinoma⁶⁸.

A inflamação do tecido adiposo visceral é um dos principais componentes da patogênese da DHGNA. Sugere-se recentemente que a disbiose da microbiota intestinal possa regular os mecanismos inflamatórios e metabólicos intra-hepáticos, causando aumento da absorção de lipopolissacarídeos, ácidos graxos de cadeia curta e endotoxinas que podem contribuir para a instalação e piora da DHGNA⁶⁹.

Mesmo que a obesidade seja estreitamente relacionada à DHGNA, o excesso de peso não é condição *sine qua non* para sua gênese. Os pacientes que apresentam lipodistrofia, por exemplo, têm alta prevalência de RI, DM2 e esteatose hepática, fortalecendo a hipótese de que não somente a quantidade de tecido adiposo, mas também sua disfunção, seja o grande vilão da DHGNA⁷⁰. Em pacientes que não realizam exercício físico, mesmo magros, um alto consumo de AGL aumenta a disponibilidade de ácidos graxos de cadeia longa no fígado e esse acúmulo é capaz de promover a inflamação hepática. Ainda que com forte associação à obesidade e à RI, nem todos os pacientes com DHGNA apresentam esses fatores de risco, mostrando a heterogeneidade da síndrome e sugerindo sua policausalidade⁶⁸.

A alteração na microbiota intestinal pode estar implicada no dano oxidativo hepatotóxico, visto que o supercrescimento bacteriano no intestino é mais frequente nos pacientes com EHNA quando comparados aos grupos-controle. A permeabilidade intestinal em pacientes com DHGNA também encontra-se aumentada⁷¹. As bactérias parecem contribuir para a lesão hepática pela produção de etanol e acetaldeído (principalmente em alças intestinais cegas) e pela produção direta de toxinas⁷².

Um hormônio que deriva do tecido adiposo, chamado adiponectina, está envolvido no controle da glicemia e no catabolismo dos AGLs; apresenta níveis séricos inversamente relacionados ao percentual de gordura corporal no indivíduo normal e, na obesidade e no DM2, seus níveis séricos encontram-se reduzidos⁷³. Ele produz efeitos benéficos ao metabolismo das gorduras, aumentando o clearance lipídico no plasma e a beta-oxidação de AG no músculo. Tem um efeito anti-inflamatório direto suprimindo TNF- α ⁷⁴. O que remata a discussão da adiponectina como hormônio cerne no metabolismo dos lipídeos é a evidência de que não somente o seu nível aumentado é benéfico ao metabolismo lipídico, como a redução dos seus níveis é relacionada com maior gravidade da histologia hepática na DHGNA⁷⁵.

Outro hormônio derivado do tecido adiposo que aparentemente tem papel fisiológico importante no desenvolvimento da RI é a resistina. A expressão aumentada em modelos animais gerou hiperinsulinemia, intolerância à glicose e prejuízo na supressão dos níveis de AGL⁷⁶.

Os ácidos biliares lipofílicos aumentam a sensibilidade à insulina e diminuem a gliconeogênese e a taxa de triglicerídeos⁷⁷. O aumento da concentração de ferro no fígado pode ter um papel no desenvolvimento e piora da EHNA. A RI também está relacionada com aumento da concentração hepática de ferro e a melhora no controle da glicemia diminui tanto a ferritina como o ferro hepático⁷⁸.

Além dessa relação, a concentração aumentada de ferro no parênquima hepático nos pacientes com EHNA correlaciona-se com a gravidade da fibrose⁷⁸. A ferritina sérica maior que 1,5 vezes o limite superior da normalidade em pacientes com DHGNA está associada com escores mais altos do Nash Activity Score (NAS) e com fibrose hepática avançada⁷⁹.

Outro hormônio sintetizado pelo tecido adiposo é a leptina, que parece contribuir para o desenvolvimento de fibrose em pacientes com DHGNA iniciais. O mecanismo até então conhecido é a desfosforilação do substrato 1 do receptor de insulina, fazendo com que a RI do hepatócito propriamente dita aumente. Nos pacientes com hepatite C crônica, níveis elevados de leptina são relacionados a graus mais intensos de fibrose⁸⁰.

1.4 DIAGNÓSTICO DA DHGNA

O diagnóstico geralmente é realizado em indivíduos assintomáticos e a maioria deles apresenta transaminases normais. Um aumento das transaminases hepáticas nesses pacientes, sem outras causas aparentes, sinaliza para a hipótese diagnóstica⁸¹. Embora incomum, quando sintomática, a DHGNA se apresenta com queixas de desconforto vago em hipocôndrio direito, fadiga e mal-estar. O exame físico é pobre, podendo apresentar características inespecíficas como hepatomegalia e acantose nigricans⁸².

1.4.1 RASTREAMENTO DE DHGNA

O rastreamento sistemático da DHGNA não está recomendado em familiares de portadores de DHGNA e não está definida a indicação de rastreamento de pacientes com alto risco de desenvolver DHGNA⁸³. Os pacientes portadores de cirrose ou EHNA e um grau de fibrose = 3 devem ser monitorados para varizes gastresofágicas⁸⁴. O CHC pode ocorrer na ausência de cirrose em indivíduos portadores DHGNA/EHNA⁸⁴. Não existe ainda evidência suficiente para recomendar rastreamento de carcinoma hepatocelular (CH) em pacientes com diagnóstico de EHNA. Pacientes com cirrose e EHNA devem ser incluídos em protocolos de rastreamento para CH, assim como pacientes com outras doenças hepáticas⁸³.

1.4.2 EXAMES LABORATORIAIS

Em pacientes com DHGNA a principal alteração laboratorial é uma elevação da AST (aspartato aminotransferase), embora elevação de ALT (alanina aminotransferase) ou de ambas as enzimas hepáticas possa ser encontrada. A razão AST/ALT é geralmente menor que 1, mas aumenta à medida que evolui a fibrose. O grau de elevação das transaminases não é preditor do estágio de fibrose ou grau de inflamação hepática e enzimas hepáticas normais não excluem lesão histológica severa⁸². Alteração na ALT, após exclusão de outras causas de inflamação hepática, é um marcador de DHGNA e prediz SM e risco cardiovascular, sendo os valores de referência

para os homens ligeiramente aumentados com relação às mulheres. Uma AST normal não é bom marcador de normalidade, visto que a maioria dos pacientes com mais de 50% de EH apresentam AST normais⁸⁵.

Além da AST e da ALT alteradas, a fosfatase alcalina e a gama-gt (ou ambas) podem estar elevadas duas a três vezes. Alterações de tempo de protrombina, hipoalbuminemia e hiperbilirrubinemia ocorrem tanto na DHGNA como na cirrose⁸².

1.4.3 RADIOLOGIA

São usados vários métodos radiológicos na avaliação da DHGNA, como ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética que, correlacionados com os exames laboratoriais, podem ser métodos diagnósticos, ainda que com algumas limitações. As alterações de enzimas hepáticas e os métodos de imagem são também considerados como critérios diagnósticos. Sabe-se, no entanto, que 80% dos portadores de DHGNA apresentam enzimas hepáticas normais⁸⁶. É importante citar que nenhum desses métodos estabelece precisamente o diagnóstico nem o grau de gravidade de DHGNA devido a dificuldade em distinguir EH simples de EHNA⁸³.

O diagnóstico radiológico possui maior validade quando utilizado em pacientes nos quais se excluem outras causas de doença hepática, que não apresentam sinais e sintomas de cirrose e não possuem fatores de risco para fibrose avançada ou cirrose, como DM2 ou alteração de ferritina⁸⁷. A ultrassonografia pode detectar esteatose quando a infiltração gordurosa supera 30%⁸⁵.

1.4.4 ESCORES CLÍNICOS

Os escores clínicos são utilizados para o diagnóstico e estadiamento de pacientes com DHGNA⁸¹. Um dos principais escores é o NAFLD Fibrosis Score (NFS). O NFS avalia seis variáveis: idade, hiperglicemia, IMC, contagem de plaquetas, albumina e a razão AST/ALT. A fórmula utilizada é igual a:

Tabela 4. Fórmula do NAFLD Fibrosis Score (NFS)

$$\begin{aligned}
 &+ 0,037 \times \text{idade (anos)} \\
 &+ 0,094 \times \text{IMC (kg/m}^2\text{)} \\
 &+ 1,13 \text{ (se Pré-diabetes ou DM2)} \\
 &+ 0,99 \times (\text{AST/ALT}) \\
 &- 0,013 \times (\text{plaquetas} \times 10^9/\text{L}) \\
 &- 0,66 \times \text{albumina (g/dL).} \\
 &- 1,675
 \end{aligned}$$

*Adaptado de Angula et al. 2007

Os valores abaixo de -1.455 excluem fibrose avançada; valores de -1,455 a 0,676 apresentam probabilidade intermediária de fibrose avançada; e valores acima de 0,676 indicam alta probabilidade de fibrose avançada⁸⁸. O NFS é um escore muito fácil de ser aplicado tendo em vista que requer apenas dados antropométricos e exames laboratoriais de rotina disponíveis na maioria dos serviços de saúde. Além disso, apresenta pouca nenhuma variabilidade interpessoal, visto que possui apenas variáveis objetivas⁸⁹.

1.4.5 BIÓPSIA HEPÁTICA

Pelo fato de a biópsia hepática conseguir avaliar o grau de infiltração gordurosa, o dano hepatocelular, a inflamação e a fibrose, ela é o método padrão ouro no diagnóstico da DHGNA. A indicação e o valor da biópsia hepática na prática clínica é, todavia, debatido: é método invasivo e não isento de riscos, a DHGNA tem prognóstico na sua maioria benigno, e o tratamento para a patologia – independente do grau – ainda é limitado, pouco efetivo e as alterações mais graves da histologia apresentam quase as mesmas medidas terapêuticas que as iniciais, quando ainda não há insuficiência hepática.

Tabela 5. Indicações e contra-indicações da biópsia hepática na DHGNA

Situação de Indicação de Biópsia	Situação em que a biópsia não é indicada
Suspeita de EHNA	Acompanhamento de EH ou Esteatohepatite
Risco elevado de esteatoepatite ou fibrose avançada em escores e/ou elastografia	Esteatose hepática assintomática em exames de imagem com ALT e AST normais
ALT e AST elevadas por mais de 3 meses	
SM com mau controle	
Elevação sérica persistente da ferritina / ferro	

*adaptado de: Cotrim HP et al. 2016.

Embora a biópsia hepática indicada como procedimento único seja considerada invasiva e com mortalidade em torno de 1:10.000 procedimentos⁹⁰, a biópsia transoperatória realizada durante um procedimento cirúrgico de rotina, como no tratamento cirúrgico da obesidade, não altera morbimortalidade do procedimento, é segura e realizada de rotina em vários serviços de cirurgia bariátrica.

A avaliação histológica dos pacientes submetidos à biópsia hepática é realizada através de sistemas de avaliação e graduação. O sistema chamado de *NAFLD activity score* (NAS), proposto por Kleiner⁹¹ e colaboradores, é um dos mais utilizados na prática clínica e caracterização da DHGNA quanto ao grau de EH, presença de balonização, atividade da inflamação e grau de fibrose.

Tabela 6: Escore NAFLD activity score

Característica histológica	Escore	Definição da categoria
Esteatose	0	< 5%
	1	5 – 33%
	2	34 – 66%
	3	>66%
Balonização hepatocelular	0	Nenhum
	1	Pouca
	2	Muita
Inflamação lobular	0	Nenhuma
	1	1-2 focos por 20 campos
	2	2-4 focos por 20 campos
	3	>4 focos por 20 campos
Fibrose	0	Sem fibrose
	1a	Zona 3 – fibrose leve
	1b	Zona 3 – fibrose moderada
	1c	Apenas fibrose periportal/portal
	2	Zona 3 + fibrose periportal/portal
	3	Fibrose em ponte
	4	Cirrose

A avaliação do sistema NAS é realizada, pontuando a análise histológica de 0 a 8: grau de esteatose (0 – 3), inflamação lobular (0 – 3) e balonização (0 – 2). O grau de fibrose é avaliado da mesma forma semiquantitativamente.

Outro sistema utilizado é o sistema SAF (steatosis, activity, fibrosis), proposto por Bedossa⁹², sistema que tem a intenção de ser mais modernizado, simplificado e ter menor variação inter-observador.

Tabela 7. Escore SAF

S - Esteatose (ing.steatosi)	Definição da categoria
S ₀	< 5%
S ₁	5 – 33%
S ₂	34 – 66%
S ₃	>67%
A – Atividade	
A ₁	Sem atividade
A ₂	Atividade baixa
A ₃	Atividade moderada
A ₄	Atividade severa
F – Fibrose	
F ₀	Nenhuma fibrose
F ₁	Zona 3 (leve a moderada)
F ₂	fibrose periportal/portal
F ₃	Fibrose em Ponte
F ₄	Cirrose

Na revisão da literatura, há grandes discrepâncias nos relatos da prevalência de NASH em indivíduos com obesidade grau IV, variando de 24% a 98%. Uma explicação aceitável é a que a definição de NASH ainda varia entre os patologistas⁹³. Mesmo que características elementares sejam conhecidas, a definição histopatológica mudou ao longo do tempo e, no conceito mais moderno, é “estabelecida pela presença de um padrão característico de esteatose, inflamação e balonização hepatocelular em biópsias hepáticas na ausência de consumo significativo de álcool”⁹¹.

A utilização de escores e sistemas de pontuação na DHGNA como o NAS e o SAF é útil no que tange à padronização para classificação histológica utilizada em trabalhos científicos como esse, mas não tem função de substituir a descrição analítica da biópsia, que introduz refinamentos. Esses algoritmos podem, dessa forma, fornecer ferramentas práticas para os patologistas que simplificam a compreensão das lesões hepáticas pelos hepatologistas⁹³.

1.5 TRATAMENTO

É de entendimento unânime dos trabalhos científicos que todos os pacientes com diagnóstico de DHGNA, independentemente do grau, devem ser submetidos a terapêuticas que variam conforme a gravidade. Essas intervenções têm por objetivo melhorar estresse oxidativo e RI, resultando em melhora da doença metabólica hepática, mas principalmente reduzindo o risco cardiovascular – causa de óbito da grande maioria desses pacientes.

1.5.1 MUDANÇA DE ESTILO DE VIDA

Os pacientes portadores de DHGNA, em sua maioria, apresentam consumo excessivo de frutose e refrigerantes, menor consumo de fibra, consumo excessivo de carne, gordura saturada e colesterol, menor consumo de peixes e baixo consumo de algumas vitaminas⁹⁴, bem como alta ingestão global de calorias e estilos de vida não saudáveis, como tabagismo e sedentarismo, embora tais fatores se sobreponham e/ou sejam fatores de confusão.

Nos pacientes que possuem sobrepeso ou obesidade, a redução do IMC, através de acompanhamento nutricional tem grande benefício no controle da DHGNA. A restrição calórica, além da redução do peso, acarreta redução de gordura hepática. Dietas ricas em alimentos de origem vegetal, ovos, laticínios, carnes brancas, como a dieta do mediterrâneo, tendem a melhorar o status lipídico, em comparação com as dietas modernas ocidentais⁹⁵, sendo que uma dieta com teor calórico mediano associado à alteração da composição de macronutrientes tem melhor resultado do que dietas com baixas calorias.

A perda de peso é o fator mais importante no controle da DHGNA. A meta de emagrecimento quando se inicia dieta com redução calórica de cerca de 25%, é em torno de 10%, embora a necessidade da perda de peso varie quanto à gravidade da doença. Uma perda de cerca de 3-5% do peso corporal total em 6 meses demonstra boa efetividade para pacientes com EH. Pacientes com NASH tem melhora com uma perda de cerca de 10% do peso corporal⁹⁶. A redução de peso promove, além da alteração da histologia a longo prazo, diminuição da ALT e AST, melhora nos testes de função hepática, redução no

conteúdo de gordura muscular, que aparentam aparecerem mais precocemente do que as alterações de imagem e histológicas dos pacientes⁹⁷.

É importante citar que, mesmo nos melhores resultados, a perda de peso dos paciente participantes tende a ser de, no máximo, 5kg após 4 anos e menor ainda quando os pacientes submetidos à intervenção forem mais pobres e com escolaridade mais abreviada⁹⁸, camadas da população mais atingida pela obesidade severa.

Outra estratégia no tratamento da DHGNA é a implementação de programas de exercício físico. Estima-se que a realização de exercícios por cerca de 150 a 200 minutos por semana possa reduzir a quantidade de gordura hepática, mesmo que não haja perda de peso. O regime de exercício deve ser adaptado para manter a assiduidade do paciente ao longo prazo. A relação entre o grau de atividade e resposta da doença é positiva⁹⁹.

Quando utilizado unicamente exercício físico como intervenção em pacientes com DM2, o conteúdo de gordura hepática medido através de ressonância nuclear magnética e espectroscopia demonstraram melhora e uma redução na incidência de DHGNA durante o seguimento. É discutível, porém, que essas alterações possam ser extrapoladas à histologia hepática, uma vez que não houve diferença nos níveis de aminotransferases¹⁰⁰.

1.5.2 TRATAMENTO MEDICAMENTOSO

No momento atual, não há qualquer indicação de tratamento medicamentoso para estágios de EH, apenas para a EHNA. Se bem avaliada a fisiopatologia da DHGNA, poderíamos ter como alvos do tratamento medicamentoso a redução do stress oxidativo, redução da inflamação celular hepática, correção da RI e obtenção do efeito antifibrótico. De todos esses mecanismos, a grande concentração de tentativas de tratamento da EHNA é nos sensibilizadores de insulina, graças à constância da RI nessa patologia e aos vários estágios em que ela atua como precursora e promotora da doença, no acúmulo de gordura, na gênese e perpetuação da EHNA e na progressão da fibrose¹⁰¹.

As glitazonas atuam promovendo a diferenciação de adipócitos resistentes à insulina, a síntese de ácidos graxos no tecido adiposo, desviando

carga de AGL para outros lugares que não o fígado, entre outras fisiopatologias, algumas ainda em fase de elucidação¹⁰². Algumas evidências sugerem que a pioglitazona tende a melhorar as características histológicas, alcançando por vezes a resolução da EHNA, redução das transaminases e da RI¹⁰³. A grande limitação do uso desses fármacos são os efeitos colaterais, como ganho de peso, aumento do índice de fraturas por taxa de perda óssea, insuficiência e câncer de bexiga¹⁰⁴.

A metformina reduz a produção de glicose hepática e aumenta a utilização de glicose periférica. Mesmo sendo uma droga muito segura e amplamente utilizada como sensibilizadora de insulina em DM2, não demonstrou efeito na histologia do hepática³ sem resultado favorável em estudos clínicos.

As estatinas são opções de tratamento para a dislipidemia e até para redução de efeitos cardiovasculares em pacientes com DHGNA, mas não para o tratamento da EHNA. Os ácidos graxos ômega-3 e ursodesoxicólico também não mostraram efeito histológico na DHGNA¹⁰⁵. Os antioxidantes e agentes antifibróticos, como a vitamina E e a pentoxifilina, também não foram aprovados para o tratamento da EHNA nem da DHGNA, por dados limitados e poucos dados provenientes de estudos controlados¹⁰⁶.

Outras drogas têm sido testadas, as hepatoprotetoras, como silimarina, metionina, betaina, metadoxil, entre outros, mas não apresentam dados científicos que permitam sua indicação no tratamento da DHGNA segundo o Consenso da Sociedade Brasileira de Hepatologia, publicado em 2015.

1.5.3 TRATAMENTO CIRÚRGICO

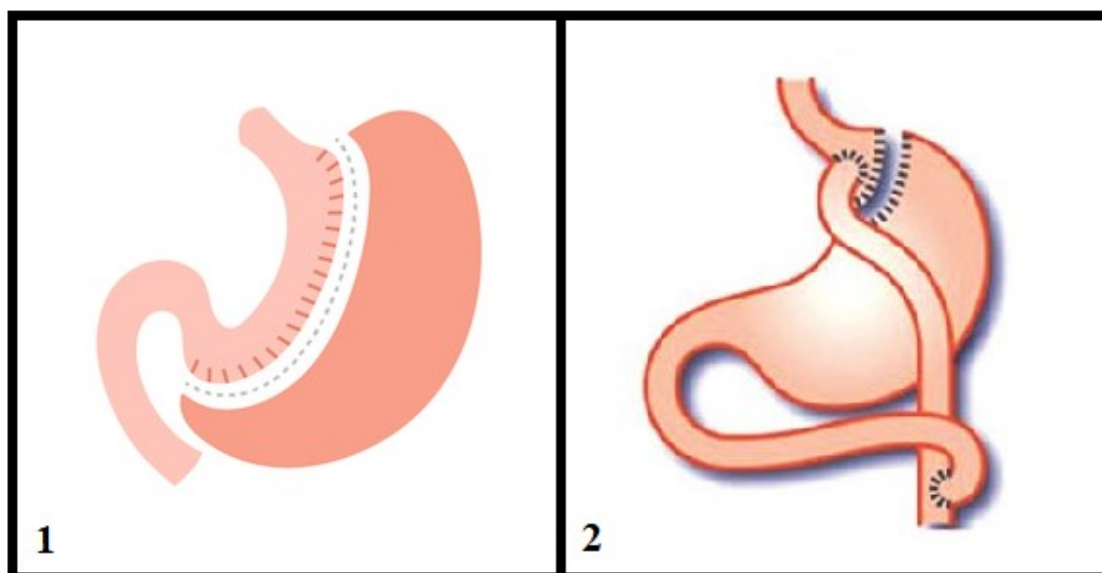
Já foi amplamente discutido neste trabalho que, tanto a obesidade quanto a RI – mais pujantemente representado pelo DM2 – sejam isolados, em conjunto ou até mesmo reunidos na SM, são os principais fatores de risco para gênese e o agravamento da DHGNA.

Para os pacientes com obesidade classe II (aqueles com IMC entre 35-40 kg/m²) com comorbidades e pacientes com obesidade classe III (aqueles com IMC > ou igual 40), a cirurgia bariátrica é a principal alternativa há cerca de 30 anos, causando perda de peso sustentada¹⁰⁷, remissão do DM2 e

redução da mortalidade global particularmente relacionada à DM2, doença cardiovascular e câncer¹⁰⁸. Além de efetiva, a cirurgia bariátrica é extremamente segura, com mortalidade peri-operatória que varia de 0,1% a 0,3% dependendo do tipo de cirurgia e das características dos pacientes¹⁰⁹. Apesar de não ser um tratamento específico para a DHGNA, pacientes obesos e/ou diabéticos com algum grau de doença apresentam benefício com a cirurgia bariátrica, mesmo a longo prazo.

No contexto de nosso país, que apresenta um dos maiores contingentes de cirurgias bariátricas e metabólicas do mundo, algumas normativas do Conselho Federal de Medicina encorajam e norteiam o tratamento desses pacientes portadores de obesidade e DHGNA, bem como seus fatores de risco. A resolução 2.121/15 permite tratamento cirúrgico da obesidade para pacientes com IMC $>35 \text{ kg/m}^2$ associado à comorbidade relacionada à obesidade, como HAS e DHGNA. Já o parecer 38/2017 autoriza o bypass gástrico em y de Roux e a gastrectomia vertical para pacientes com DMII com IMC entre 30 e 35 kg/m refratários ao tratamento clínico.

Figura 4. Representação esquemática dos procedimentos cirúrgicos: 1- gastrectomia vertical (Sleeve); 2-Bypass gástrico em y-de-Roux.



O Bypass Gástrico em Y-de-Roux e a gastrectomia vertical têm ótimos resultados com relação ao tratamento da obesidade, embora ainda não haja

conclusões taxativas quanto à comparação de qual técnica é mais eficaz no tratamento da DHGNA.

Os efeitos da cirurgia bariátrica para o DHGNA estão relacionados à melhora da histologia, incluindo resolução do EAHN em 75% dos casos, redução da fibrose em 35% dos casos¹¹⁰ e reversão parcial de cirrose¹¹¹, efeitos não alcançados com nenhum outro tratamento, incluindo dieta e mudança de hábitos. Além disso, a perda maciça de peso reduz mediadores pró-inflamatórios do tecido adiposo, como TNF- α e IL-6, melhora da resistência de insulina hepática e inibição da inflamação hepática¹¹².

2 JUSTIFICATIVA

A obesidade é patologia de grande incidência e com comorbidades relacionadas que tem alto custo ao sistema de saúde e alta morbi-mortalidade associada. Porto Alegre é a capital que possui a maior quantidade de pessoas com excesso de peso (55,4%)¹¹³. Já a prevalência da obesidade aumentou de 7,4% da população feminina há 40 anos para 24%, ou cerca de 18 milhões de mulheres. Nos homens foi de 3,5% para 17,1% (12 milhões).

Continuamente crescente no mundo, estima-SE que em 2025, no mundo inteiro, cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso e mais de 700 milhões obesos. Para o Brasil, os números estimados também são alarmantes: mais de 37% de obesos para 2025⁸¹.

A DHGNA apresenta distribuição global e já aparece como doença hepática mais comum nos países industrializados do ocidente, principalmente por sua relação estrita com obesidade, DM II, dislipidemia e síndrome metabólica. Internacionalmente, a prevalência de DHGNA é relatada como 6-35%, com média de 20%, na população geral. Nos Estados Unidos, a prevalência da EH varia entre 10-46%, com estudos de biópsias hepáticas evidenciando NASH em 3-5%¹¹⁴. No Brasil, a prevalência da EH, avaliada por ultrassonografia, está estimada em 18% ¹¹⁵.

Os paciente portadores de DMII, principalmente aqueles com grande RI no tecido hepático e adiposo, têm sido associado à DHGNA. Essa associação é ainda mais forte conforme aumenta a gravidade do DMMII e RI. Justifica-se, portanto, a realização desse estudo para melhor entendimento da relação da obesidade e DMII na gravidade da DHGNA.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Correlacionar os achados histológicos da biópsia hepática do transoperatório de pacientes diabéticos e não diabéticos, escalonados de acordo com o índice de massa corporal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características clínicas dos pacientes com obesidade mórbida;
- Avaliar prevalência de DM2, HAS e dislipidemia no pré-operatório;
- Avaliar e comparar prevalência de EH, EHNA e estágio de fibrose na biópsia transoperatória;

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Festi D, Colecchia A, Sacco T, Bondi M, Roda E, Marchesini G. Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance. *Obes Rev.*2004;5:27-42.
2. Yeh MM, Brunt EM (2014) Pathological features of fatty liver disease. *Gastroenterology* 147: 754-764.
3. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al.: The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the study of liver diseases, American college of gastroenterology, and the American gastroenterological association. *Hepatology* 2012; 55: 2005–23.
4. Clain DJ, Lefkowitz JH. Fatty liver disease in morbidly obesity. *Gastroenterol Clin North Am.* 1987;16:239-52.
5. Bellentani S. The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Internacional.* 2017 Jan;37:81–4.
6. Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2011;9:524–530.
7. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, et al. Incidence and natural course of fatty liver in the general population: the Dionysos study. *Hepatology.* 2007;46:1387–1391.
8. Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis.* 2010;28:155-61.
9. Cotrim HP, Daltro C. Liver: Does bariatric surgery reduce the severity of NAFLD? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*2010 Jan;7(1):11-3.
10. Singh S, Allen AM, Wang Z, et al. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13:643–648.
11. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology.* 2005;129:113- 21.
12. Hamaguchi E, Takamura T, Sakurai M, et al. Histological course of nonalcoholic fatty liver disease in Japanese patients: tight glycemic control,

rather than weight reduction, ameliorates liver fibrosis. *Diabetes Care*. 2010;33:284–286.

13. Loomba R, Bettencourt R, Barrett-Connor E. Synergistic association between alcohol intake and body mass index with serum alanine and aspartate aminotransferase levels in older adults: the Rancho Bernardo Study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;30:1137–1142.

14. Saab S, Mallam D, Cox GA II, Tong MJ. Impact of coffee on liver disease: a systematic review. *Liver Int*. 2014;34:495–504.

15. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010;363:1341–1350.

16. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver versus nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13:643–654.

17. Lazo M, Hernaez R, Bonekamp S, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and mortality among US adults: prospective cohort study. *BMJ*. 2011;343:d6891

18. Kim D, Kim WR, Kim HJ, Therneau TM. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States. *Hepatology*. 2013;57:1357–1365.

19. Bhati C, Idowu MO, Sanyal AJ, Rivera M, Driscoll C, Stravitz RT, et al. Long Term Outcomes in Patients Undergoing Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis Related Cirrhosis. *Transplantation*. 2017 Mar;1.

20. White DL, Kanwal F, El-Serag HB. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10:1342–1348.

21. Piscaglia F, Svegliati-Baroni G, Barchetti A, et al. Clinical patterns of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver disease: a multicenter prospective study. *Hepatology*. 2016;63:827–838

22. Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2013, 309 (1): 71-82. 10.1001/jama.2012.113905.

23. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the Third Report of the National

Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Cholesterol. JAMA, v. 285, p. 2486–2497, 2001.

24. Item F, Konrad D. Visceral fat and metabolic inflammation: the portal theory revisited. *Obes Rev.* 2012 Dec;13 Suppl 2:30-9.

25. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):98---107.

26. Van Greevenbroek MM, Schalkwijk CG, Stehouwer CD. Obesity-associated low-grade inflammation in type 2 diabetes mellitus: causes and consequences. *Neth J Med.* 2013;71(4):174---87.

27. Feng D, Tang Y, Kwon H, Zong H, Hawkins M, Kitsis RN, et al. High-fat diet-induced adipocyte cell death occurs through a cyclophilin D intrinsic signaling pathway independent of adipose tissue inflammation. *Diabetes.* 2011;60(8):2134---43.

28. Kitamura H, Kimura S, Shimamoto Y, Okabe J, Ito M, Miyamoto T, et al. Ubiquitin-specific protease 2-69 in macrophages potentially modulates meta-inflammation. *FASEB J.* 2013;27(12):4940---53.

29. Murano I, Barbatelli G, Parisani V, Latini C, Muzzonigro G, Castellucci M, et al. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. *J Lipid Res.* 2008;49(7):1562---8.

30. Yoshizaki T, Kusunoki C, Kondo M, Yasuda M, Kume S, Morino K, et al. Autophagy regulates inflammation in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;417(1):352---7.

31. Suárez-Álvarez K, Solís-Lozano L, Leon-Cabrera S, González- Chávez A, Gómez-Hernández G, Quiñones-Álvarez MS, et al. Serum IL-12 is increased in Mexican obese subjects and associated with low-grade inflammation and obesity-related parameters. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:967067.

32. Leulier F, Lemaitre B. Toll-like receptors - taking an evolutionary approach. *Nat Rev Genetics.* 2008;9(3):165---78.

33. Jialal I, Huet BA, Kaur H, Chien A, Devaraj S. Increased toll-like receptor activity in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Care.* 2012;35(4):900---4.

34. Kopp A, Gross P, Falk W, Bala M, Weigert J, Buechler C, et al. Fatty acids as metabolic mediators in innate immunity. *Eur J Clin Invest.* 2009;39(10):924---33.

35. Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(12):923---34.
36. Iwata NG, Pham M, Rizzo NO, Cheng AM, Maloney E, Kim F. Trans fatty acids induce vascular inflammation and reduce vas-cular nitric oxide production in endothelial cells. *PLoS One*. 2011;6(12):e29600.
37. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev*. 2006;86(2):515---81.
38. Nishi E, Kume N, Ueno Y, Ochi H, Moriwaki H, Kita T. Lysophosphatidylcholine enhances cytokine-induced interferon gamma expression in human T lymphocytes. *Circ Res*. 1998;83(5):508-15.
39. Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, Zwaka TP, Bienek M, Walten-berger J, et al. Role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arter Thromb Vasc Biol*. 2000;20(9):2094-9.
40. Navarro-Millán I, Singh JA, Curtis JR. Systematic review of tocilizumab for rheumatoid arthritis: a new biologic agent targeting the interleukin-6 receptor. *Clin Ther*. 2012;34(4):788---802, e3.
41. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes. Results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes*. 2003;52(3):812-7.
42. Imai Y, Dobrian AD, Weaver JR, Butcher MJ, Cole BK, Galkina EV, et al. Interaction between cytokines and inflammatory cells in islet dysfunction, insulin resistance and vascular disease. *Diabetes Obes Metab*. 2013;15 Suppl 3:117--29.
43. Maedler K, Dharmadhikari G, Schumann DM, Størling J. Interleukin-targeted therapy for metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Handb Exp Pharmacol*. 2011;203:257---78.
44. Cavelti-Weder C, Babians-Brunner A, Keller C, Stahel MA, Kurz- Levin M, Zayed H, et al. Effects of gevokizumab on glycemia and inflammatory markers in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35(8):165-62.
45. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993;259(5091):87---91.

46. Ruotsalainen E, Vauhkonen I, Salmenniemi U, Pihlajamäki J, Punnonen K, Kainulainen S, et al. Markers of endothelial dysfunction and low-grade inflammation are associated in the offspring of type 2 diabetic subjects. *Atherosclerosis*. 2008;197(1):271---7.
47. De Groot AA, van Zwieten PA, Peters SLM. Involvement of reactive oxygen species in angiotensin II-induced vasoconstriction. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;43(1):154---9.
48. Johnson RJ, Alpers CE, Yoshimura A, Lombardi D, Pritzl P, Floege J, et al. Renal injury from angiotensin II-mediated hypertension. *Hypertension*. 1992;19(5):464---74.
49. Dimitriadis K, Tsioufis K, Poulakis M, Lioni L, Flessas D, Kintis K, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products levels are associated with asymmetric dimethylarginine and low-grade inflammation in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(14s1). E1560-E1560.
50. Shimizu M, Ishikawa J, Yano Y, Hoshida S, Shimada K, Kario K. The relationship between the morning blood pressure surge and low-grade inflammation on silent cerebral infarct and clinical stroke events. *Atherosclerosis*. 2011;219(1):316---21.
51. Ludwig J, Viggiano T, Mill B, Ott B. Non alcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*. 1980;55:434–438.
52. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40:1387–95.
53. Uchihara M, Izumi N. High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP): A promising biomarker for the screening of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) *Nihon Rinsho*. 2006;64:1133–8.
54. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo . *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:4196–200.
55. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Lippi G, Franchini M, Zoppini G, et al. NASH predicts plasma inflammatory biomarkers independently of visceral fat in men. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1394–9.

56. Wieckowska A, Papouchado BG, Li Z, Lopez R, Zein NN, Feldstein AE. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2008 Jun;103(6):1372-9.
57. Wolf, A.M., Wolf, D., Rumpold, H. et al. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 323: 630–635
58. Yeh MM, Brunt EM (2014) Pathological features of fatty liver disease. *Gastroenterology* 147: 754-764.
59. Gramlich T, Kleiner DE, McCullough AJ, Matteoni CA, Boparai N, Younossi ZM. Pathologic features associated with fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Hum Pathol* 2004; 35:196-199.
60. Martin S, Parton RG (2006) Lipid droplets: a unified view of a dynamic organelle. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7: 373-378.
61. Tandra S, Yeh MM, Brunt EM, Vuppalanchi R, Cummings OW, et al. (2011) Presence and significance of microvesicular steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 55: 654-659.
62. Brunt, E.M., et al., Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 1999. 94(9): p. 2467-74.
63. Uysal, S., et al., Some inflammatory cytokine levels, iron metabolism and oxidant stress markers in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Biochem* 2011 44(17-18): p. 1375-9.
64. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, et al. (2005) Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 41: 1313-1321.
65. Mathurin P, Hollebecque A, Arnalsteen L, Buob D, Leteurtre E, Caiazzo R, et al. Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease. *Gastroenterology*. 2009;137(2):532-40.
66. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*. 1998;114(4):842-5.
67. Hafeez S, Ahmed MH. Bariatric surgery as potential treatment for nonalcoholic fatty liver disease: a future treatment by choice or by chance? *Journal of obesity*. 2013;2013:839275.

68. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology*. 2002;35(2):373-9.
69. Lassailly G, Caiazzo R, Pattou F, Mathurin P. Perspectives on Treatment for Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2016;150(8):1835-48.
70. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003;37(4):917-23.
71. Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*. 2001;48(2):206-11
72. Baraona E, Julkunen R, Tannenbaum L, Lieber CS. Role of intestinal bacterial overgrowth in ethanol production and metabolism in rats. *Gastroenterology*. 1986;90(1):103-10.
73. Han SH, Quon MJ, Kim JA, Koh KK. Adiponectin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Feb 6;49(5):531-8.
74. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2003;112(1):91-100.
75. Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Faga E, et al. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology*. 2005;42(5):1175-83.
76. Satoh H, Nguyen MT, Miles PD, Imamura T, Usui I, Olefsky JM. Adenovirus-mediated chronic "hyper-resistinemia" leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(2):224-31.
77. Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Sanyal AJ, Lavine JE, Van Natta ML, Abdelmalek MF, et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2015;385(9972):956-65.

78. Vigano M, Vergani A, Trombini P, Paleari F, Piperno A. Insulin resistance influence iron metabolism and hepatic steatosis in type II diabetes. *Gastroenterology*. 2000;118(5):986-7.
79. Kowdley KV, Belt P, Wilson LA, Yeh MM, Neuschwander-Tetri BA, Chalasani N, et al. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012;55(1):77-85
80. Crespo J, Rivero M, Fabrega E, Cayon A, Amado JA, Garcia-Unzeta MT, et al. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. *Digestive diseases and sciences*. 2002;47(7):1604-10.
81. Yki-Jarvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *The L Diabetes & endocrinology*. 2014;2(11):901-10.
82. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *The New England journal of medicine*. 2002;346(16):1221-31.
83. Cotrim HP, Parise ER, Figueiredo-Mendes C, Galizzi-Filho J, Porta G, Oliveira CP. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Brazilian Society of Hepatology Consensus. *Arquivos de gastroenterologia*. 2016;53(2):118-22.
84. Attar BM, Van Thiel DH. Current concepts and management approaches in nonalcoholic fatty liver disease. *TheScientificWorldJournal*. 2013;2013:481893.
85. Lebovics E, Rubin J. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): why you should care, when you should worry, what you should do. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2011;27(5):419-24.
86. Rinella ME, Sanyal AJ. Management of NAFLD: a stage-based approach. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2016;13(4):196-205
87. Sheth S. G. CS. Epidemiology, Clinical features, and diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in adults: UpToDate 2016 [updated December,19, 2016]. 1-22].
88. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007;45(4):846-54.

89. Cazzo E, Jimenez LS, Pareja JC, Chaim EA. Effect of Roux-en-Y gastric bypass on nonalcoholic fatty liver disease evaluated through NAFLD fibrosis score: a prospective study. *Obesity surgery*. 2015;25(6):982-5.
90. Grant A, Neuberger J, Day C, Saxseena S. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. London: British Society of Gastroenterology Guidelines; 2004.
91. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *HEPATOLOGY* 2005;41:1313-1321.
92. Bedossa P, Poitou C, Veyrie N, et al. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. *Hepatology*. 2012;56(5):1751–9.
93. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson L A, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *HEPATOLOGY* 2011;53:810-820.
94. S. Zelber-Sagi, D. Nitzan-Kaluski, R. Goldsmith, M. Webb, L. Blendis, Z. Halpern, et al. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *J Hepatol*, 47 (2007), pp. 711-717
95. Ryan MC, Itsiopoulos C, Thodis T, et al. The mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2013;59(1):138–43.
96. Larson-Meyer DE, Newcomer BR, Heilbronn LK, Volaufova J, Smith SR, Alfonso AJ, Lefevre M, Rood JC, Williamson DA, Ravussin E: Effect of 6-month calorie restriction and exercise on serum and liver lipids and markers of liver function. *Obesity* 2008;16:1355–1362
97. Thomas EL, Brynes AE, Hamilton G, Patel N, Spong A, Goldin RD, Frost G, Bell JD, Taylor-Robinson SD: Effect of nutritional counselling on hepatic, muscle and adipose tissue fat content and distribution in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2006;12:5813–5819

98. M.J. Franz, J.J. VanWormer, A.L. Crain, J.L. Boucher, T. Histon, W. Caplan, et al. Weight-loss outcomes: a systematic review and meta-analysis of weight-loss clinical trials with a minimum 1-year follow-up
99. Thoma C, Day CP, Trenell MI. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. *J Hepatol.* 2012;56(1):255–66.
100. M. Lazo, S.F. Solga, A. Horska, S. Bonekamp, A.M. Diehl, F.L. Brancati, et al. Effect of a 12-month intensive lifestyle intervention on hepatic steatosis in adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 33 (2010), pp. 2156-2163
101. K. Cusi. Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. *Gastroenterology*, 142 (2012), p. e716
102. B.I. Frohnert, T.Y. Hui, D.A. Bernlohr. Identification of a functional peroxisome proliferator-responsive element in the murine fatty acid transport protein gene *J Biol Chem*, 274 (1999), pp. 3970-3977
103. A.J. Sanyal, N. Chalasani, K.V. Kowdley, A. McCullough, A.M. Diehl, N.M. Bass, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*, 362 (2010), pp. 1675-1685
104. A. Ferrara, J.D. Lewis, C.P. Quesenberry, T. Peng, B.L. Strom, S.K. Van Den Eeden, et al. Cohort study of pioglitazone and cancer incidence in patients with diabetes. *Diabetes Care*, 34 (2011), pp. 923-929.
105. Schurks M, Glynn RJ, Rist PM, et al. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ.* 2010;341:c5702.
106. Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1082–90.
107. NIH conference. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Consensus Development Conference Panel. *Annals of internal medicine.* 1991;115(12):956-61.
108. Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, Banel D, Jensen MD, Pories WJ, et al. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *The American journal of medicine.* 2009;122(3):248-56 e5.

109. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41(6):1313-21.
110. G. Lassailly, R. Caiazzo, D. Buob, M. Pigeyre, H. Verkindt, V. Raverdy, et al. Effects of bariatric surgery on severe liver injury in morbid obese patients with proven NASH: a prospective study. *Hepatology*, 60 (2014), p. 305A
111. J.G. Kral, S.N. Thung, S. Biron, F.S. Hould, S. Lebel, S. Marceau, et al. Effects of surgical treatment of the metabolic syndrome on liver fibrosis and cirrhosis *Surgery*, 135 (2004), pp. 48-58
112. A.R. Moschen, C. Molnar, S. Geiger, I. Graziadei, C.F. Ebenbichler, H. Weiss, et al. Anti-inflammatory effects of excessive weight loss: potent suppression of adipose interleukin 6 and tumour necrosis factor expression. *Gut*, 59 (2010), pp. 1259-1264
113. Vigitel Brazil 2016: surveillance of risk and protective factors for chronic diseases by telephone survey: estimates of sociodemographic frequency and distribution of risk and protective factors for chronic diseases in the capitals of the 26 Brazilian states and the Federal District in 2016
114. Williams CD, Stengel J, Asike MI, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*. 2011; 140(1):124-31.
115. Cotrim HP, Parise ER, Oliveira CP et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Ann Hepatol*. 2011;10 (1):33-7.

5 ARTIGO

**COMPARAÇÃO DA GRAVIDADE DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA
NÃO ALCOÓLICA DE PACIENTES OBESOS DIABÉTICOS E NÃO
DIABÉTICOS****Diedrich, J, PRO Fontes**

RESUMO

Introdução: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) apresenta um amplo espectro de alterações histopatológicas, desde a esteatose até a cirrose hepática. A literatura sugere que pacientes com diabetes melito (DMT2), por sua relação na fisiopatologia, têm risco aumentado para incidência e gravidade dessa doença. **Objetivo:** O objetivo principal deste estudo foi determinar a prevalência e a gravidade da DHGNA em pacientes obesos diabéticos e não diabéticos submetidos à cirurgia bariátrica. Também foram analisados e comparados os dados epidemiológicos e demográficos, parâmetros clínicos e laboratoriais. **Pacientes e Métodos:** Todos os pacientes elencados submeteram-se à cirurgia bariátrica pela mesma equipe cirúrgica, na Santa Casa de Porto Alegre, no período de 2016 a 2018. Realizou-se a avaliação das biópsias hepáticas através do *NAFLD activity score* (NAS) para avaliação quanto ao grau de esteatose hepática, à presença de balonização, à atividade da inflamação e ao grau de fibrose. **Resultados:** Foram observados 154 pacientes submetidos à cirurgia bariátrica com biópsia transoperatória concomitante, divididos em duas faixas de IMC, de 35 a 44.9 e de 45 a 54.9. Não houve complicação relacionada com a biópsia hepática. Dos 154 pacientes, 32 (20,8%) eram diabéticos e 122 (79,2%) eram não diabéticos. Os pacientes com DMT2 eram significativamente mais velhos que os pacientes sem a doença, $41,29 \pm 9,40$ anos vs $36,71 \pm 10,13$ anos, no grupo com IMC de 35 a 44.9 ($p=0,049$) e $45,13 \pm 7,10$ anos vs $37,00 \pm 9,24$ anos no grupo com IMC de 45 a 54.9 ($p=0,024$). Além disso, neste último grupo, observou-se associação significativa dos pacientes diabéticos com a presença de hipertensão arterial sistêmica (HAS) ($p=0,033$). Na avaliação histológica realizada, os pacientes com DMT2 do grupo com IMC de 35 a 44.9 apresentaram forte associação com maior prevalência e gravidade de esteatose, balonização, inflamação, fibrose e esteato-hepatite. **Conclusão:** Os dados deste estudo confirmam prevalência elevada de DHGNA em pacientes com Obesidade Mórbida. A prevalência e a gravidade aumentam proporcionalmente ao IMC. Pacientes de uma mesma faixa de IMC que possuam DMT2 como comorbidade apresentam maior prevalência e gravidade da doença, sugerindo sua associação com a síndrome metabólica.

Palavras-chaves: Doença hepática gordurosa não alcoólica; Obesidade Mórbida; biópsia hepática.

INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada pelo acúmulo de triglicerídeos nos hepatócitos, podendo levar a um incremento da massa hepática em 5-10% do peso¹ nos indivíduos com baixo consumo de álcool. Apresenta graus diferentes de alterações histológicas, dividindo-se em esteatose hepática simples (EH) e esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), com presença de reação inflamatória, dano hepatocelular, balonização dos hepatócitos, com ou sem os variados graus de fibrose², podendo evoluir para cirrose e carcinoma hepatocelular. A DHGNA é o transtorno hepático mais comum no mundo, com uma prevalência relatada de até 35%³.

Os principais fatores de risco para DHGNA são os mesmos que os componentes da Síndrome Metabólica (SM): obesidade central, dislipidemia e resistência à insulina⁵. Dessa forma, a DHGNA é considerada o componente hepático da SM, caracterizando-se fator de risco independente para desenvolvimento de doença cardiovascular⁶.

A história natural da DHGNA é, em geral, reflexo da história natural da SM, principalmente pelo fato de que as duas patologias têm fatores causais e fisiopatologias sobrepostos. Por conseguinte, é concebível entender que as principais complicações das duas patologias também sejam afins. Sendo assim, é a doença cardiovascular e não a hepática, a causa mais comum de morte entre os pacientes portadores dessa moléstia.

A dislipidemia e a Resistência Insulínica (RI) têm forte associação com a deposição exagerada de triglicerídeos nos hepatócitos⁹. Esse acúmulo de lipídeo está associado a aumento da gliconeogênese, diminuição da síntese de glicogênio, o que faz com que a RI fique mais exacerbada, ocorra um aumento da inflamação de baixo grau levando a progressão da doença hepática para fibrose, cirrose e aumentando o risco de hepatocarcinoma¹⁰.

A perda de peso é o fator mais importante no controle da DHGNA. A meta de emagrecimento, quando se inicia dieta com redução calórica de cerca de 25%, é em torno de 10%, embora a necessidade da perda de peso varie quanto à gravidade da doença. Os efeitos da cirurgia bariátrica para o DHGNA estão relacionados à melhora da histologia, incluindo resolução do EHNA em 75% dos casos, redução da fibrose em

35% dos casos¹¹ e reversão parcial de cirrose¹², efeitos não alcançados com nenhum outro tratamento, incluindo dieta e mudança de hábitos.

Em 2015, a International Diabetes Federation publicou dados estimando a prevalência de diabetes tipo 2 (DMT2) em 415 milhões de pessoas e com perspectiva de crescimento para 642 milhões até o ano de 2040⁷. O controle glicêmico adequado no DMT2 é crucial na prevenção de complicações, melhora da qualidade de vida e redução da mortalidade⁸. Entretanto, mesmo com novos avanços do tratamento clínico, o controle medicamentoso tem sucesso em menos de 30% dos doentes^{25,26}. Nesse contexto, a cirurgia bariátrica e a cirurgia metabólica emergem como formas de controle que vão além da perda de peso, melhorando ainda o controle metabólico, com consequente redução do risco cardiovascular²⁷.

O objetivo deste estudo é correlacionar os achados histológicos da biópsia hepática do transoperatório de cirurgia bariátrica de pacientes obesos diabéticos e não diabéticos, escalonados de acordo com o índice de massa corporal, descrever as características clínicas e avaliar e comparar a prevalência de EH, EHNA e estágio de fibrose.

PACIENTES E MÉTODOS

Foram avaliados neste estudo retrospectivo 228 pacientes obesos diabéticos e não diabéticos que foram submetidos a cirurgia bariátrica por uma mesma equipe da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA), no período de 2016 a 2018, que foram submetidos a biópsia hepática transoperatória. Foram excluídos 74 pacientes pelos seguintes critérios: consumo de álcool relatado foi maior do que 140g/semana para os homens e 70g/semana para mulheres⁴, usuários de drogas ou medicações hepatotóxicas, portadores de outras hepatopatias, procedimentos para redução de peso prévios - cirurgia bariátrica prévia ou balão intra-gástrico. Os 154 pacientes restantes, foram avaliados através de dados antropométricos, índice de massa corporal (IMC), variáveis laboratoriais e variáveis histo-patológicas. Consideraram-se pacientes com DMT2 aqueles pacientes que na avaliação pré-operatória já se encontravam em tratamento com insulina e antidiabéticos orais; os sem-tratamento foram considerados diabéticos quando a glicemia de jejum foi maior que 126mg/dl e os

pacientes com hemoglobina glicosilada (HbA1c) $>6,5$ em análises consecutivas¹⁴. Foram considerados Hipertensos os pacientes já em uso de anti-hipertensivos ou com pressão arterial $>130/85$ mmHg²⁸. A pesquisa foi aprovada pelo comitê de ética da ISCMPA (parecer 04887018.1.0000.5335).

A biópsia hepática foi realizada com tesoura fria de videolaparoscopia, no segmento III, através de duas incisões confluentes, formando uma cunha, rotina no intra-operatório da equipe.

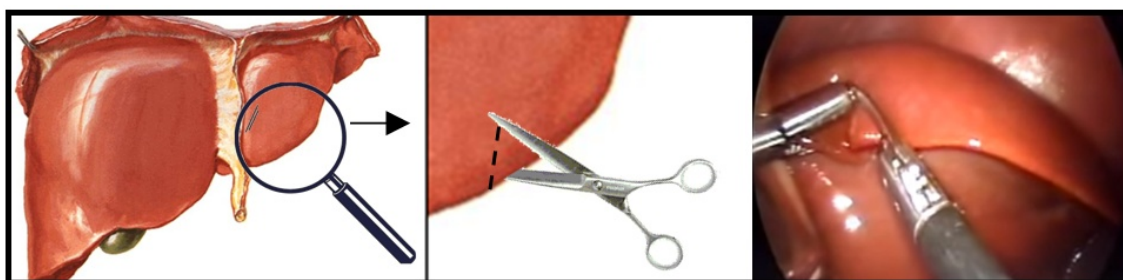


Figura 5: Metodologia da biópsia hepática e aspecto transoperatório. (fonte: elaborado pelo autor)

As biópsias hepáticas foram analisadas no serviço de patologia da ISCMPA, por diferentes patologistas. A técnica histo-patológica padrão utilizada para análise do espécime foi Perls e Tricrômico de Masson. Foi empregado o sistema *NAFLD activity score* (NAS), proposto por Kleiner¹³ e colaboradores, para avaliação quanto ao grau de EH, presença de balonização, atividade da inflamação e grau de fibrose.

A avaliação do sistema NAS é realizada pontuando a análise histológica de 0 a 8, o grau de esteatose (0 – 3), inflamação lobular (0 – 3) e balonização (0 – 2). O grau de fibrose é avaliado da mesma forma semiquantitativamente. A presença percentual de menos de 5% de esteatose recebe 0; de 5 a 33% recebe 1; de 33 a 66%, recebe 2; e maior que 66% recebe 3. Para o diagnóstico de EHNA, é considerada necessária a presença de esteatose associada à balonização hepatocitária e/ou ao infiltrado inflamatório. A atividade da EHNA foi classificada através da presença de balonização em nenhuma (0), pouca (1) ou muita (2) e inflamação lobular em nenhuma (0), 1-2 focos em 20 campos (1), 3-4 focos em 20 campos (2), >4 focos em 20 campos (3).

O grau de fibrose foi classificado como estágio 0, quando sem fibrose; grau 1a quando identificada fibrose leve em zona 3; grau 1b quando identificada fibrose moderada em zona 3; grau 1c quando identificada apenas fibrose periportal/portal; grau 2 quando identificada fibrose periportal/portal e zona 3; grau 3 quando identificada fibrose em ponte; grau 4 quando identificado cirrose.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Nas análises descritivas, as variáveis quantitativas foram expressas em média $\pm$ desvio-padrão (DP) e mediana, e as variáveis qualitativas em frequência e percentual. Para comparação entre os pacientes com ou sem diabetes utilizou-se teste t de Student ou teste de Mann-Whitney, conforme a distribuição das variáveis quantitativas avaliadas pelo teste de normalidade Shapiro-Wilke, e para as demais variáveis qualitativas, teste qui-quadrado, estratificando-se pelo IMC (de 35 a 44.9 e de 45 a 54.9). Adotou-se $p < 0,05$ como estatisticamente significativo. Todas as análises foram feitas usando o software IMB® SPSS® versão 23.0.

RESULTADOS

Os pacientes avaliados tiveram em ambos os grupos uma média de internação de 4,3 dias. Não houve relato de nenhuma complicação cirúrgica (sangramento, fistula biliar) relacionados à biópsia hepática.

Dos 154 pacientes, 32 (20,8%) eram diabéticos e 122 (79,2%) não diabéticos. Os pacientes com DMT2 eram significativamente mais velhos que os pacientes sem a doença, $41,29 \pm 9,40$ anos vs $36,71 \pm 10,13$ anos, no grupo com IMC de 35 a 44.9 ($p=0,049$) e $45,13 \pm 7,10$ anos vs $37,00 \pm 9,24$ anos no grupo com IMC de 45 a 54.9 ($p=0,024$). Além disso, neste último grupo observou-se associação significativa dos pacientes diabéticos com a presença de hipertensão arterial sistêmica (HAS) ($p=0,033$).

Tabela 8. Dados antropométricos e prevalência de HAS

IMC	Variáveis	Sem DM	Com DM	p-valor
35-44.9	Idade*	36,71 ± 10,13	41,29 ± 9,40	0,049
	Sexo (M)	20 (23,5)	8 (33,3)	0,480
	HAS (S)	28 (32,9)	14 (58,3)	0,033
45-54.9	Idade*	37,00 ± 9,24	45,13 ± 7,10	0,024
	Sexo (M)	10 (27,0)	5 (62,5)	0,095
	HAS (S)	14 (37,8)	5 (62,5)	0,253

*Valores expressos em média ± desvio-padrão

Com relação à técnica cirúrgica, a principal realizada foi o Bypass gástrico em Y de Roux. Nos pacientes com IMC entre 35-44.9 sem DMT2, 75 pacientes (88,2%) foram submetidos a Bypass gástrico e 10 pacientes foram submetidos à gastrectomia vertical (11,2%). Nos pacientes com IMC entre 45-54.9, sem DMT2, 34 (88,2%) foram submetidos a Bypass gástrico e 3 pacientes (8,1%) foram submetidos a gastrectomia vertical. Dos pacientes com DMT2, tanto com IMC entre 35-44.9 quanto os com IMC entre 45-54.9 foram submetidos a Bypass gástrico.

Para análise das variáveis laboratoriais utilizaram-se como resultados possíveis: normal ou alterado. De acordo com a definição de síndrome metabólica, consideraram-se os seguintes valores anormais: colesterol total (CT) > 200 mg/dl; triglicerídeos (TG) ≥150 mg/dl e colesterol HDL <40 mg/dl para homens e <50 mg/dl para mulheres. Pacientes com DMT2 tem uma maior tendência a apresentar alterações nesses exames laboratoriais, embora tal associação não tenha apresentado significância estatística. Os dados coletados nos exames laboratoriais estão expressos na Tabela 10.

Tabela 9. Exames laboratoriais

IMC	Variáveis	Sem DM	Com DM	p-valor
35-44.9	CT (Alterado)	33 (38,8)	14 (58,3)	0,105
	HDL (Alterado)	20 (23,5)	9 (37,5)	0,196
	TG (Alterado)	33 (38,8)	12 (50,0)	0,355
45-54.9	CT (Alterado)	14(37,8)	2 (25,0)	0,691
	HDL (Alterado)	13 (35,1)	5 (62,5)	0,235
	TG (Alterado)	10 (27,0)	4 (50,0)	0,231

Quanto à avaliação histológica apresentada na Tabela 11, os pacientes com DMT2 do grupo com IMC de 35 a 44.9 apresentaram forte associação com maior prevalência e gravidade de EH, balonização, inflamação, fibrose e EHNA.

Tabela 10. Avaliação histológica dos pacientes com IMC 35-44.9

Variáveis	Sem DMT2	Com DMT2	p-valor
Esteatose			0,003
< 5%	18 (21,2)	1 (4,2)	
5-33%	27 (31,8)	3 (12,5)	
34 – 66%	17 (20,0)	4 (16,7)	
>66%	23 (27,1)	16 (66,7)	
Balonização			0,006
Nenhuma	32 (37,6)	1 (4,2)	
Pouca	1 (1,2)	1 (4,2)	
Muita	52 (62,1)	22 (91,7)	
Inflamação			0,008
Nenhuma	33 (38,8)	1 (4,2)	
1-2 focos por 20 campos	38 (44,7)	15 (62,5)	
2-4 focos por 20 campos	13 (15,3)	8 (33,3)	
>4 focos por 20 campos	1 (1,2)	0 (0,0)	
NAS			0,001
Ausência de EHNA	16 (18,8)	1 (4,2)	
Limítrofe	32 (37,6)	2 (8,3)	
EHNA	37 (43,5)	21 (87,5)	
Fibrose			0,002
F0	41 (48,2)	4 (16,7)	
F1	31 (36,5)	9 (37,5)	
F2	8 (9,4)	3 (12,5)	
F3	4 (4,7)	7 (29,2)	
F4	1 (1,2)	1 (4,2)	
Total	85	24	

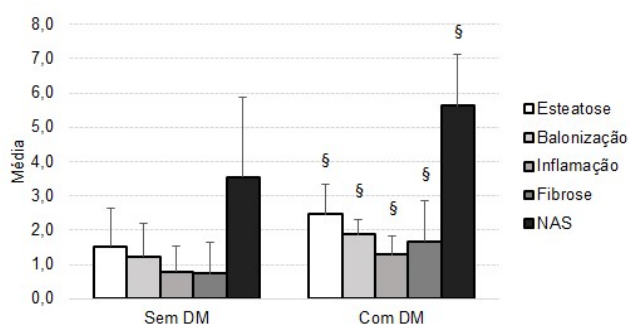


Gráfico 1. Avaliação histológica no grupo com IMC de 35-44.9

§ Difere significativamente dos sem DMT2 (teste de Mann-Whitney; $p < 0,05$)

A Tabela 12 apresenta a avaliação histológica dos pacientes com IMC 45 a 54,9, permitindo concluir que não foi observada significância estatística na associação da gravidade de EH, balonização, inflamação, fibrose e EHNA em pacientes com DMT2.

Tabela 11. Avaliação histológica dos pacientes com IMC 45-54,9

Variáveis	Sem DMT2	Com DMT2	p-valor
Esteatose			0,683
< 5%	2 (5,4)	0 (0,0)	
5-33%	11 (29,7)	2 (25,0)	
34 – 66%	13 (35,1)	2 (25,0)	
>66%	11 (29,7)	4 (50,0)	
Balonização			0,766
Nenhuma	6 (16,2)	2 (25,0)	
Pouca	1 (2,7)	0 (0,0)	
Muita	30 (81,1)	6 (75,0)	
Inflamação			0,701
Nenhuma	6 (16,2)	2 (25,0)	
1-2 focos por 20 campos	22 (59,5)	5 (62,5)	
2-4 focos por 20 campos	9 (24,3)	1 (12,5)	
>4 focos por 20 campos	0 (0,0)	0 (0,0)	
NAS			0,754
Ausência de EH	2 (5,4)	0 (0,0)	
Limítrofe	11 (29,7)	3 (37,5)	
EHNA	24 (64,9)	5 (62,5)	
Fibrose			0,546
F0	11 (29,7)	4 (50,0)	
F1	15 (40,5)	3 (37,5)	
F2	6 (16,2)	0 (0,0)	
F3	5 (13,5)	1 (12,5)	
F4	0 (0,0)	0 (0,0)	
Total	37	8	

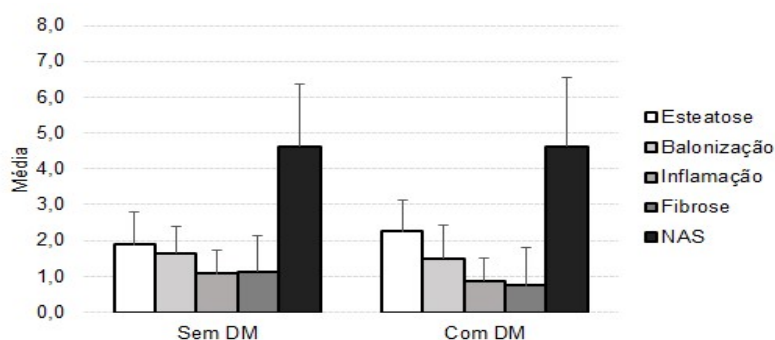


Gráfico 2: avaliação histológica no grupo com IMC de 45-54,9

DISCUSSÃO

No presente estudo foram avaliados 154 pacientes obesos submetidos a tratamento cirúrgico da obesidade. Primeiramente, há de mencionar-se que desses pacientes, 109 foram submetidos ao Bypass gástrico, técnica clássica para o tratamento da obesidade. Muito embora seja a gastrectomia vertical a preferência crescente na técnica cirúrgica, tal técnica permanece em discussão quanto a resolubilidade da DHGNA¹⁵. Com relação à perda de peso, as duas técnicas apresentam-se efetivas a curto, médio e a longo prazo¹⁶.

Por certo que a DHGNA, por algum tempo, foi entendida como patologia adjunta e sem muita importância ao longo prazo, ao passo que a obesidade mórbida e a síndrome metabólica tornaram-se epidemia, a cirurgia da obesidade despontou como tratamento efetivo. Logo, a DHGNA já se torna, em algumas discussões, mais um componente da SM e não simplesmente um componente da obesidade¹⁷.

A fisiopatogenia da lesão hepática em pacientes obesos é controversa. Ainda que haja positiva relação entre obesidade e DHGNA, o excesso de peso não é condição necessária para sua gênese. Os pacientes que apresentam lipodistrofia, por exemplo, têm alta prevalência de RI, DMT2 e esteatose hepática, fortalecendo a hipótese de que não somente a quantidade de tecido adiposo mas a sua disfunção, seja o grande vilão da DHGNA¹⁸. Dessa forma, mesmo que a relação positiva entre obesidade e a DHGNA, o IMC e o peso absoluto do paciente não estão diretamente relacionados. Esses pacientes apresentam em sua grande parte perfil clínico similar aos pacientes com SM¹⁹.

Em pacientes sedentários magros, um alto consumo de ácidos graxos livres (AGL) aumenta a disponibilidade de ácidos graxos de cadeia longa no fígado, e esse acúmulo é capaz de promover a inflamação hepática. Ainda que com forte associação à obesidade e à RI, nem todos os pacientes com DHGNA apresentam esses fatores de risco, mostrando a heterogeneidade da síndrome e sugerindo sua policausalidade²⁰.

No presente estudo, avaliando-se as características demográficas do grupo de pacientes com IMC entre 35-44,9 e no grupo de 45-54,9, os pacientes diabéticos apresentam média de idade maior que os pacientes não diabéticos. A relação positiva

entre pacientes diabéticos e hipertensos também foi observada. Possivelmente, os pacientes mais jovens, obesos e ainda não diabéticos possam ter uma tendência de desenvolvimento de diabetes e hipertensão, como sequencia fisiopatológica da Síndrome metabólica²¹.

Quanto à análise laboratorial, os pacientes com DMT2 tem uma maior tendência a apresentar alterações nesses exames laboratoriais. Embora tal associação não tenha apresentado significância estatística, está em consonância com a literatura.

A DHGNA abrange espectro de lesões: esteatose, hepatite e fibrose. Não muito raro, essas três entidades patológicas se encontram presentes no mesmo paciente, sendo que, na presença de fibrose, a evolução para cirrose e hepatocarcinoma pode acontecer em 20% e 10% dos casos, respectivamente²².

A prevalência geral da DHGNA foi de 86,36%, dado que está compatível com a literatura²³, que relata uma prevalência de 84 e 96% de DHGNA, em pacientes com obesidade mórbida. No grupo de pacientes com IMC 35-44.9, os não diabéticos tiveram uma prevalência de 78% e os diabéticos uma prevalência de 95,8%. No grupo de pacientes com IMC 45-54.9, os não diabéticos tiveram uma prevalência de 94,6% e os diabéticos uma prevalência de 100%. Dessa forma, percebe-se que a prevalência da DHGNA, aumenta conforme o IMC e a associação positiva com o DMT2.

No que tange especificamente à inflamação, no grupo dos pacientes com IMC 35-44.9, a prevalência de inflamação na biópsia foi de 95,83% nos pacientes diabéticos em comparação com 38,82% nos pacientes não diabéticos. Ou seja, mesmo que a obesidade possa ser o fator desencadeante na fisiopatologia da DHGNA²⁴, a inflamação de baixo grau desencadeada pela associação da obesidade com a resistência insulínica será mais prejudicial do que a obesidade isolada.

Para a realização de uma análise quantitativa da DHGNA, foi utilizado o *NAFLD activity score* (NAS) e o grau de Fibrose, o que permitiu avaliar e comparar de maneira mais prática e objetiva os estágios da doença hepática entre os grupos. No grupo dos pacientes com IMC entre 35-44.9, os pacientes diabéticos obtiveram um NAS médio de $5,6 \pm 1,5$ e os não-diabéticos $3,6 \pm 2,3$. No grupo dos pacientes com IMC

entre 45-54,9, os pacientes diabéticos obtiveram um NAS médio de $4,6 \pm 1,9$, e os não-diabéticos $4,6 \pm 1,7$. Houve significância estatística somente no grupo dos pacientes com IMC 35-44,9, fato que pode ser explicado de duas formas: 1- O grupo de pacientes 45-54,9 apresenta um número de pacientes reduzidos; 2- O efeito deletério da obesidade mórbida nesses pacientes com IMC 45-54,9 é muito maior. Esses resultados corroboram com o caráter pró-inflamatório do DMT2 como componente da SM.

A natureza retrospectiva do estudo e o pequeno número de pacientes diabéticos no grupo com IMC entre 45-54,9, são possíveis limitações quando se analisam seus resultados.

Em conclusão, os dados do presente trabalho confirmam prevalência elevada de DHGNA em pacientes com Obesidade Mórbida. A prevalência e a gravidade da patologia aumentam proporcionalmente ao IMC. Pacientes de uma mesma faixa de IMC que possuam DMT2 como comorbidade apresentam maior prevalência e gravidade da doença, demonstrando forte associação com a SM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Festi D, Colecchia A, Sacco T, Bondi M, Roda E, Marchesini G. Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance. *Obes Rev.*2004;5:27-42.
2. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al.: The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the study of liver diseases, American college of gastroenterology, and the American gastroenterological association. *Hepatology* 2012; 55: 2005–23.
3. Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2011;9:524–530.
4. Cotrim HP, Daltro C. Liver: Does bariatric surgery reduce the severity of NAFLD? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*2010 Jan;7(1):11-3.
5. Singh S, Allen AM, Wang Z, et al. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13:643-648.

6. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129:113-21.
7. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes*, 7 ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2015. <http://www.diabetesatlas.org>.
8. Mendes AB, Fittipaldi JA, Neves RC, Chacra AR, Moreira ED Jr. Prevalence and correlates of inadequate glycaemic control: results from a nationwide survey in 6,671 adults with diabetes in Brazil. *Acta Diabetol*. 2010 Jun;47(2):137-45. doi: 10.1007/s00592-009-0138-z.7
9. Hafeez S, Ahmed MH. Bariatric surgery as potential treatment for nonalcoholic fatty liver disease: a future treatment by choice or by chance? *Journal of obesity*. 2013;2013:839275.
10. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology*. 2002;35(2):373-9.
11. G. Lassailly, R. Caiazzo, D. Buob, M. Pigeyre, H. Verkindt, V. Raverdy, et al. Effects of bariatric surgery on severe liver injury in morbid obese patients with proven NASH: a prospective study. *Hepatology*, 60 (2014), p. 305A
12. J.G. Kral, S.N. Thung, S. Biron, F.S. Hould, S. Lebel, S. Marceau, et al. Effects of surgical treatment of the metabolic syndrome on liver fibrosis and cirrhosis *Surgery*, 135 (2004), pp. 48-58
13. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *H EPATOLOGY* 2005;41:1313-1321.
14. The International Expert Committee. International expert committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2009; 32(7):1327-34.
- 15- Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, et al. Bariatric surgery and endoluminal procedures: IFSO worldwide survey 2014. *Obes Surg*. 2017;27(9):2279-89,
- 16- Peterli R, Wölnerhanssen BK, Peters T, et al. Effect of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy vs Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass on Weight Loss in Patients With Morbid Obesity: The SM-BOSS Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2018 Jan. 16;319(3):255-265.
- 17- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50:1844-50.

- 18- Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003;37(4):917-23.
- 19- Younossi ZM, Stepanova M, Negro F, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in lean individuals in the United States. *Medicine (Baltimore)* 2012 Nov;91(6):319-27.
- 20- Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology*. 2002;35(2):373-9.
- 21- Bellentani S. The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International*. 2017 Jan;37:81–4.
- 22- Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005 Jul;129(1):113-21
- 23- Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2006 Mar;40 Suppl 1:S5-10.
- 24- Zangar RC, Novak RF. Effects of fatty acids and ketone bodies on cytochromes P450 2B, 4A, and 2E1 expression in primary cultured rat hepatocytes. *Arch Biochem Biophys*. 1997 Jan 15;337(2):217-24.
25. Stark Casagrande S, Fradkin JE, Saydah SH, Rust KF, Cowie CC. The prevalence of meeting A1C, blood pressure, and LDL goals among people with diabetes, 1988-2010. *Diabetes Care*. 2013 Aug;36(8):2271-9. doi: 10.2337/dc12-2258
26. Sumithran P, Prendergast LA, Delbridge E, Purcell K, Shulkes A, Kriketos A, Proietto J. Long-term persistence of hormonal adaptations to weight loss. *N Engl J Med*. 2011 Oct 27;365(17):1597-604. doi: 10.1056/NEJMoa1105816).
27. Schauer PR, Burguera B, Ikramuddin S, Cottam D, Gourash W, Hamad G, Eid GM, Mattar S, Ramanathan R, Barinas-Mitchel E, Rao RH, Kuller L, Kelley D. Effect of laparoscopic Roux-en Y gastric bypass on type2 diabetes mellitus. *Ann Surg*. 2003 Oct;238(4):467-84.
28. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005;365:1415-28.