

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

**Rafael Bergesch D’Incao**

**CORRELAÇÃO ENTRE ACHADOS NA  
HISTOPATOLOGIA HEPÁTICA E OS  
NÍVEIS DE ADIPOCINAS EM  
PACIENTES SUBMETIDOS A  
CIRURGIA BARIÁTRICA**

Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre

Porto Alegre  
2016

**Rafael Bergesch D’Incao**

**CORRELAÇÃO ENTRE ACHADOS NA  
HISTOPATOLOGIA HEPÁTICA E OS  
NÍVEIS DE ADIPOCINAS EM  
PACIENTES SUBMETIDOS A  
CIRURGIA BARIÁTRICA**

Dissertação 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

Orientadora: Dra. Cristiane Valle Tovo  
Co-orientadora: Dra. Vanessa SuñéMattevi

**Porto Alegre  
2016**

Catálogo na Publicação

Bergesch D'Incao, Rafael

CORRELAÇÃO ENTRE ACHADOS HISTOPATOLOGIA HEPÁTICA E OS NÍVEIS DE ADIPOCINAS EM PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIA BARIÁTRICA / Rafael Bergesch D'Incao. -- 2016.

62 p. : graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, 2016.

Orientador(a): Cristiane Valle Tovo ; coorientador(a): Vanessa Suñé Mattevi.

1. Doença Hepática Gordurosa não-alcóolica. 2. Adipocinas. 3. Histopatologia Hepática. 4. Obesidade mórbida. 5. Cirurgia Bariátrica. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## **AGRADECIMENTOS:**

Agradeço, inicialmente, à minha família. À minha eterna namorada e futura esposa Renata pelo apoio incondicional durante toda essa jornada. Aos meus pais, Marli e Fernando, pela formação do meu caráter e pelo exemplo como pesquisadores que são, estimulando sempre a busca do conhecimento.

Agradeço aos meus colegas Marcelo Campos Appel da Silva, Patrícia da Silva Marcon, Luciana Brosina de Leon e Fernanda de Quadros Onófrío pela parceria durante todo o mestrado. Aos meus colegas do Hospital Independência, especialmente Silvia Terres Marasco e Matheus Girardi Schueigart, pelo apoio durante minha ausência no transcorrer das práticas didáticas.

Finalmente, agradeço à Dra. Cristiane Valle Tovo por todo o suporte e paciência, durante minha residência no Hospital Nossa Senhora da Conceição e agora como minha orientadora. Mas, acima de tudo, agradeço pelo exemplo como uma profissional e pesquisadora extremamente dedicada e competente, nunca deixando faltar a alegria.

## RESUMO:

**INTRODUÇÃO:** A obesidade é uma doença de abrangência mundial, sendo implicada comprovadamente com inúmeras condições clínicas. Entre elas destaca-se a doença hepática gordurosa não-alcóolica (DHGNA), presente em cerca de 80% dos obesos e em até 95% dos obesos mórbidos. Atualmente, essa doença vem sendo compreendida como um estado inflamatório crônico, sendo associado à produção de inúmeras citocinas, conhecidas como adipocinas. O objetivo do presente estudo foi analisar os níveis de adipocinas no soro, na gordura visceral e na subcutânea, sendo comparados com os achados histopatológicos hepáticos em uma população de pacientes obesos mórbidos. **MÉTODOS:** foi realizado um estudo observacional descritivo retrospectivo, onde foram analisados os achados da biópsia hepática em pacientes submetidos a cirurgia bariátrica e que haviam realizado análise dos níveis de adipocinas (adiponectina, leptina e resistina) no tecido subcutâneo, visceral e no soro. Na avaliação das biópsias hepáticas realizadas durante o procedimento cirúrgico os espécimes obtidos foram avaliados conforme a classificação de *Kleiner*. **RESULTADOS:** foram analisados 25 pacientes obesos mórbidos submetidos à cirurgia bariátrica. Houve correlação estatisticamente significativa da idade e dos níveis de hemoglobina glicada com a esteatohepatite não-alcóolica (EHNA), bem como uma correlação inversa dos níveis séricos de leptina e resistina com os graus de esteatose e da resistina com a presença de fibrose. Não houve correlação entre expressão de adipocinas no tecido subcutâneo e visceral com os achados histopatológicos. **CONCLUSÃO:** nessa população de obesos mórbidos, os níveis de leptina se apresentaram reduzidos com o aumento do conteúdo hepático de gordura e os níveis séricos de resistina se mostraram diminuídos na presença, tanto de esteatose simples, como de EHNA. A idade avançada mostrou relação com EHNA e os níveis da hemoglobina glicada se mostraram elevados quando associados com a DHGNA, refletindo a resistência insulínica de forma indireta.

## **ABSTRACT:**

**INTRODUCTION:** obesity is a worldwide disease, involved with many conditions. Among them there is non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), present in about 80% of obese and up to 95% of morbidly obese individuals. Nowadays, this disease is being understood as a chronic inflammatory state, associated with the production of several cytokines, known as adipokines. These are probably involved in the whole spectrum of NAFLD. The aim of the present study was to evaluate the serum levels of adipokines and their expression in the visceral and subcutaneous fat of morbidly obese patients undergoing bariatric surgery and to correlate this data with hepatic histopathology. **METHODS:** this is a retrospective descriptive observational study, which analyzed the liver biopsy in patients undergoing bariatric surgery and who had already performed analysis of adipokines (adiponectin, leptin and resistin) in subcutaneous, visceral tissue and serum. The hepatic specimens, obtained during surgery, were evaluated according to Kliener's classification. **RESULTS:** there was a statistically significant relationship between age and glycated hemoglobin levels and NAFLD and an inverse correlation between serum leptin and resistin with the degree of steatosis and between resistin and fibrosis in the histopathological analysis. There was no correlation between the adipokines expression in the visceral and subcutaneous tissue and the histopathologic findings. **CONCLUSION:** morbidly obese serum levels of leptin was diminished in the presence of high levels of steatosis and serum levels of resistin were diminished in the presence of both simple steatosis and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). The age was related to NASH. The levels of glycated hemoglobin became higher in the presence of NAFLD, indirectly reflecting insulin resistance.

### **Lista de Tabelas:**

Tabela 1. Dados antropométricos e laboratoriais dos 25 pacientes incluídos no presente estudo

Tabela 2. Correlação entre dados antropométricos e bioquímicos com achados histológicos hepáticos.

Tabela 3. Correlação dos níveis séricos de adipocinas com os achados histopatológicos hepáticos.

Tabela 4. Correlação dos níveis de RNA mensageiro das adipocinas no tecido subcutâneo e visceral com os achados histopatológicos hepáticos.

### **Lista de Figuras:**

Figura 1. Níveis plasmáticos de adiponectina de acordo com as características histopatológicas observadas nas amostras hepáticas

Figura 2. Níveis plasmáticos de leptina de acordo com as características histopatológicas observadas nas amostras hepáticas.

Figura 3. Níveis plasmáticos de resistina de acordo com as características histopatológicas observadas nas amostras hepáticas.

## Lista de Siglas e Abreviaturas:

DHGNA – Doença hepática gordurosa não-alcóolica

EHNA – Esteatohepatite não-alcóolica

CHC – Carcinoma Hepatocelular

IMC – Índice de massa corporal

TNF $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa

IL – Interleucina

LEP – Leptina

RETN – Resistina

ADIPOQ – Adiponectina

EUA – Estados Unidos da América

NIH – National Institutes of Health

OMS – Organização Mundial da Saúde

ALT – Alanina aminotransferase

NAS – *NAFLD fibrosis score*

AST – Aspartato aminotransferase

MRE – Elastografia transitória por ressonância magnética

CK18 – Citoqueratina 18

FDA – Food and Drug Administration

*GLP-1 – Glucagon-like peptide-1*

RBP-4 - Proteína carreadora do retinol 4

*IGF-1 – Insuline-like growth factor 1*

*HDL – High Density Lipoprotein*

ApoB – apolipoproteína B

GGT – gamaglutamiltransferase

*TGF- $\beta$  – Transforming growth factor beta*

TNFR2 - Tumor necrosis factor receptor 2

HNSC – Hospital Nossa Senhora da Conceição

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

UFCSPA – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

CEP – Comitê de ética e pesquisa

TCLE – Termo de consentimento livre esclarecido

DP – Desvio Padrão

## ANOVA – Análise de Variância

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	13
2.1. OBESIDADE .....	13
2.2. DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCÓOLICA .....	15
2.3. ADIPOCINAS .....	23
2.3.1. ADIPONECTINA .....	23
2.3.2. LEPTINA .....	25
2.3.3 RESISTINA .....	26
2.3.4 ADIPOCINAS E ATIVIDADE DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCÓOLICA .....	27
3. JUSTIFICATIVA .....	29
4. OBJETIVOS .....	30
5. REFERÊNCIAS .....	31
6. ARTIGO CIENTÍFICO .....	41
7. CONCLUSÃO .....	68
8. ANEXOS .....	69

## 1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença de abrangência mundial, sendo implicada comprovadamente em inúmeras condições clínicas, mais frequentemente na hipertensão arterial sistêmica, no diabetes mellitus tipo 2, na dislipidemia, na doença coronariana e no acidente vascular cerebral, atingindo proporções epidêmicas tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento (1). A doença hepática gordurosa não-alcóolica (DHGNA) também está associada à obesidade, com presença estimada em cerca de 80% dos obesos e em até 95% dos obesos mórbidos (2,3). Seu espectro é constituído por esteatose hepática simples, esteatohepatite não-alcóolica (EHNA), cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) (4).

O tratamento da obesidade tem objetivos mais amplos que a simples redução do peso, mas também a redução de riscos associados e melhora nos parâmetros de saúde (5). Apesar da ampla gama de tratamentos disponíveis atualmente para obesidade (medicamentos, dietas altamente restritivas e diferentes técnicas cirúrgicas), sua terapêutica ainda é desafiadora e a mudança no estilo de vida e as técnicas cognitivo-comportamentais continuam sendo fundamentais. A cirurgia bariátrica surge como alternativa em pacientes com obesidade severa com índice de massa corporal (IMC) igual ou superior a 40,0 kg/m<sup>2</sup> ou com IMC igual ou superior a 35,0 kg/m<sup>2</sup> associado a fatores de risco, quando não responderam a outros métodos de tratamento (6). Pela frequência do comprometimento hepático em pacientes obesos, a biópsia hepática tem sido proposta de forma assistencial nestes pacientes por ocasião da realização da cirurgia bariátrica, embora esse tema ainda seja controverso (7,8).

O tecido adiposo, além de sua função básica e reconhecida de armazenamento de triglicerídeos, vem sendo reconhecido também como um órgão endócrino ativo atuando de forma determinante na homeostase energética do organismo, tanto na organização e fracionamento de lipídeos, mas também modulando a função de outros órgãos, centrais ou periféricos, pela síntese e secreção de moléculas próprias, chamadas adipocinas (9).

Indivíduos obesos ou portadores de síndrome metabólica podem apresentar distúrbios na produção de adipocinas, acarretando em mudanças na sensibilidade à insulina e outras alterações bioquímicas e metabólicas, aumentando a

suscetibilidade a desordens metabólicas, tais como: resistência insulínica, diabetes do tipo II, hipertensão arterial sistêmica e doenças cardiovasculares entre outras (9).

A DHGNA é considerada a tradução da síndrome metabólica no fígado, com um estado de inflamação crônica e produção de mediadores pró-inflamatórios como fator de necrose tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ), interleucina (IL) 1, alfa/beta, IL-6, dentre outros(10).

No presente estudo, pretendemos avaliar o comportamento das adipocinas leptina (LEP), adiponectina (ADIPOQ) e resistina (RETN) no sangue, tecido adiposo subcutâneo e visceral, em comparação com as alterações histopatológicas encontradas nas biópsias hepáticas realizadas no transcurso da cirurgia bariátrica.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 OBESIDADE

A obesidade é, atualmente, a doença metabólica mais prevalente em todo mundo, atingindo proporções epidêmicas, afetando não somente adultos, mas crianças e adolescentes, tanto em países desenvolvidos, como em países em desenvolvimento. Nas últimas duas décadas, a obesidade se tornou o problema de saúde mais prevalente no mundo, superando inclusive a desnutrição e as doenças infecciosas (1,5).

Essa doença tem sido considerada um problema de saúde grave, tendo em vista seu amplo espectro de doenças relacionadas como o diabetes mellitus tipo 2, a hipertensão arterial sistêmica, a doença arterial coronariana e o acidente vascular cerebral, além de algumas formas de câncer como o de endométrio, de mama, de próstata e do cólon (1). Nos Estados Unidos da América (EUA), é estimado que existam cerca de 97 milhões de pessoas com sobrepeso ou obesidade, sendo considerada pelo *National Institutes of Health* (NIH) como a causa de morte evitável mais prevalente (11). No Canadá, por exemplo, é estimado que 1 em cada 10 mortes prematuras em adultos (entre 20 e 64 anos de idade) esteja diretamente relacionada à obesidade, e o custo relacionado à obesidade também vem crescendo nesse país, sendo estimado em 2 bilhões de dólares/ano, em 1997 (1). Na Europa, o sobrepeso e obesidade são responsáveis por 80% dos casos de diabetes, 35% dos casos de cardiopatia isquêmica e 55% dos casos de hipertensão arterial sistêmica (5). Essa tendência mundial não se modifica no Brasil onde, conforme estimativa de 2010, 29% dos adultos apresentam sobrepeso e 11% obesidade, totalizando cerca de 40% da população adulta com excesso de peso. Dentre todas as regiões estudadas, a região sul apresenta a maior taxa de prevalência de excesso de peso, em cerca de 36% da população (12). O estudo VIGITEL (13), realizado em 2013, entrevistou mais de 50.000 pessoas, através de contato telefônico e analisou, entre outros aspectos, a presença de sobrepeso e obesidade. Constatou que 50,3% dos entrevistados, todos com mais de 18 anos, apresentavam sobrepeso (IMC maior ou igual a 25) e 17,5% apresentavam obesidade (IMC maior ou igual a 30).

As causas da obesidade são complexas e multifatoriais, envolvendo fatores ambientais, sociais e genéticos. Em uma visão mais simplista, seria relacionada a

um balanço energético positivo (interação de energia consumida e energia gasta) por um período prolongado. Na verdade, interações entre fatores biológicos, comportamentais, sociais e ambientais estão envolvidas na regulação do balanço energético e reservas de gordura (5,14). São considerados fatores de risco para obesidade: a ingestão de alimentos com alto teor calórico, o aumento das porções ofertadas por refeição e o sedentarismo. Essas alterações comportamentais e ambientais acarretam em alterações na estrutura do tecido adiposo (hipertrofia e hiperplasia de adipócitos) e na secreção de substâncias próprias desse tecido (adipocinas) (5). No contexto atual, de uma sociedade pautada em um modo de vida sedentário com alto consumo energético, a obesidade vem crescendo em escala mundial, tanto em jovens como em adultos.

A obesidade pode ser avaliada de diversas formas, sendo o IMC o parâmetro mais utilizado, que avalia peso e altura do paciente, sendo definida a obesidade quando o paciente possui IMC acima de  $30,0 \text{ kg/m}^2$  e sobrepeso quando o IMC está entre  $25,0$  e  $29,9 \text{ kg/m}^2$ . Entretanto, esse método possui uma série de limitações, entre elas a incapacidade de diferenciar massa magra da massa gorda e o fato de não refletir necessariamente a distribuição da gordura corporal nem a proporção de gordura nas diferentes populações. Dessa forma, a combinação do IMC com medidas de distribuição de gordura corporal é útil para a avaliação global do paciente (6).

Dentre os métodos para avaliar a distribuição de gordura corporal, destaca-se a medida da circunferência abdominal que reflete de forma mais acurada a gordura visceral e possui associação direta com morbidade e mortalidade cardiovascular (6). Essa, conforme a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (15), deve ser medida no ponto médio entre a crista ilíaca e o rebordo costal inferior. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera que existe risco cardiovascular aumentado quando a circunferência abdominal é maior que  $80,0 \text{ cm}$  nas mulheres e  $94,0 \text{ cm}$  nos homens. Outros métodos de aferição da distribuição de gordura corporal são a bioimpedância, a medição de pregas cutâneas, a relação circunferência abdominal/quadril, entre outros (6,16).

O tratamento da obesidade é complexo e multidisciplinar. Diversos avanços têm sido realizados em relação a dieta, exercícios físicos, medidas comportamentais e medidas farmacológicas, além da cirurgia bariátrica. Porém, mudanças no estilo de vida continuam sendo a base do tratamento(5).

O tratamento da obesidade tem objetivos mais amplos que a simples redução do peso, como a redução de riscos associados e melhora nos parâmetros de saúde. (5). Esse é complexo e deve ser multidisciplinar. Apesar da ampla gama de tratamentos disponíveis para a obesidade (medicamentos, dietas altamente restritivas e diferentes técnicas cirúrgicas), a mudança no estilo de vida e as técnicas cognitivo-comportamentais continuam sendo fundamentais. Após a avaliação inicial, os pacientes são classificados, conforme o IMC. Assim, a obesidade é dividida em: grau I, indivíduos com IMC entre 30 e 34,9 kg/m<sup>2</sup>; grau II, indivíduos com IMC entre 35 e 39,9 kg/m<sup>2</sup> e grau III, indivíduos com IMC maior que 40 kg/m<sup>2</sup> (6).

No tratamento da obesidade ou do sobrepeso, inicialmente, deve-se instituir uma dieta com redução moderada de calorias (déficit de 500-1000 kcal/dia), em torno de 1000 a 1200 kcal/dia para mulheres e 1400-1600 kcal/dia para homens, buscando perda de 0,5 a 1,0 kg/semana, sempre associada ao aumento do gasto energético através de atividade física moderada a regular, de pelo menos 30 minutos, em 3 a 5 dias da semana (6,11,16). Para pacientes com IMC igual ou superior a 30,0 kg/m<sup>2</sup> ou com IMC igual ou superior a 27,0 kg/m<sup>2</sup> com fatores de risco associados, está autorizado o uso de fármacos (Ex: Sibutramina, Orlistat) como tratamento adjuvante à dieta e exercício físico. A cirurgia bariátrica surge como alternativa em pacientes com obesidade severa com IMC igual ou superior a 40,0 kg/m<sup>2</sup> ou com IMC igual ou superior a 35,0 kg/m<sup>2</sup> associado a fatores de risco que não responderam a outros métodos de tratamento (5,6,16).

Considera-se sucesso no tratamento da obesidade a obtenção e manutenção de uma perda de peso que resulte em efeitos benéficos sobre doenças associadas, como diabetes tipo 2, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia (17). Essas metas podem ser alcançadas com reduções moderadas de peso (5 a 10% do peso inicial), alterações nos hábitos alimentares e aumento moderado de atividade física (17,18).

## **2.2 DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCÓOLICA**

A DHGNA é a causa mais comum de doença hepática no mundo, com prevalência estimada entre 25 e 45%, sendo seu aumento observado em paralelo ao crescimento da obesidade e do diabetes. Nos EUA, é estimado que 68% dos adultos apresentem sobrepeso ou obesidade. Dessa forma, podemos estimar que entre 75 e 100 milhões de pessoas apresentem DHGNA naquele país (4,19). No Brasil,

conforme dados do Ministério da Saúde, estima-se que cerca de 50,1% da população apresente sobrepeso ou obesidade e cerca de 11% da população com diagnóstico de diabetes, evidenciando a dimensão desse problema de saúde pública em nosso país (12). Em nosso meio, quando avaliada uma população de obesos mórbidos candidatos a cirurgia bariátrica, foi observada alta prevalência de esteatose simples (90,4%) e EHNA (70,4%)(20,21).

O diagnóstico da doença hepática gordurosa é estabelecido através de métodos não-invasivos (exames laboratoriais ou de imagem) ou através da histologia hepática, após exclusão de causas secundárias (22). A DHGNA foi pela primeira vez descrita em 1980, por Ludwig *et al*(23), que descreveram a doença em cerca de 20 pacientes através de análise histopatológica hepática, achados relacionados mais fortemente à obesidade com doenças associadas e ao sexo feminino. Posteriormente, Kleiner *et al* (24) elaboraram um escore avaliando achados histológicos, dividindo a DHGNA em duas categorias histológicas: a esteatose hepática não-alcoólica simples e a EHNA.

A EHNA é considerada a forma progressiva da DHGNA, com evolução mais rápida quando comparada à esteatose hepática simples. Em estudo recente, uma metanálise publicada por Singh *et al*.(25), estimou a taxa de progressão de um estágio de fibrose, conforme classificação de METAVIR, em cerca de 7,1 anos para pacientes com EHNA e de 14,3 anos para pacientes com esteatose hepática simples. Outro estudo, conduzido por Pais *et al*.(26), fez o seguimento de 70 pacientes com diagnóstico de DHGNA, através de duas biópsias hepáticas seriadas no intervalo de um ano, demonstrando uma progressão bem definida da esteatose hepática simples até EHNA, principalmente quando os fatores de risco metabólicos não eram controlados e uma evolução mais rápida em pacientes portadores de esteatohepatite, progredindo para estágios avançados de fibrose.

A fibrose hepática é o mais importante marcador de progressão da DHGNA. Conforme estudo de Matteoni *et al*.(27), a presença de fibrose, corpúsculos de Mallory ou balonização hepatocitária no espécime hepático, apresentam risco de progressão para graus avançados de fibrose, estimado em torno de 20%. Por outro lado, aqueles com esteatose hepática simples, sem lesão hepatocelular, possuem risco de 4% de evolução para cirrose. Entretanto, mesmo com a progressão da doença hepática, a mortalidade está relacionada com o sistema cardiovascular e as consequências da síndrome metabólica, do que propriamente com as causas

hepáticas. Em estudo realizado por Adams *et al.* (28), foram analisados 420 pacientes retrospectivamente, sendo a mortalidade associada a malignidade (28%), doenças cardiovasculares (25%) e causas hepáticas (13%). Outro estudo, também retrospectivo, comparou a mortalidade entre pacientes com EHNA, com estágios avançados de fibrose ou cirrose, com outro grupo de pacientes portadores de hepatite C crônica, também com estágios avançados de fibrose, demonstrando menor mortalidade por causas hepáticas e incidência de CHC entre pacientes com doença hepática gordurosa, embora a mortalidade geral tenha sido igual entre os dois grupos (29).

A patogênese da DHGNA ainda não foi totalmente elucidada. Atualmente, a teoria mais aceita é a *“two-hit hypothesis”*, na qual o primeiro evento seria a resistência insulínica promovendo o acúmulo intra-hepático de lipídeos e o segundo evento a indução da inflamação e lesão hepatocelular, atribuído tradicionalmente às espécies reativas de oxigênio (30). Inúmeros fatores parecem contribuir para a lesão hepatocelular (*“second hit”*), como a peroxidação lipídica, redução de antioxidantes, supercrescimento bacteriano, excesso de ferro e disfunção mitocondrial, entre outros (31). Assim, devemos entender a DHGNA como um processo de múltiplas etapas, sendo o acúmulo hepático de gordura o primeiro passo, seguido do desenvolvimento de necroinflamação e fibrose (32).

O tecido adiposo é considerado um órgão endócrino, possuindo papel central na homeostase energética do organismo. Esse tecido, através de um adipócito funcional produz citocinas, chamadas adipocinas, que tem efeito local, periférico e central (32). Em obesos, devido ao influxo aumentado de lipídeos, essa gordura passa a ser acumulada em adipócitos ectópicos (viscerais) que se tornam disfuncionais. A gordura ectópica visceral, mais do que a subcutânea, está associada a resistência insulínica e DHGNA (33). O adipócito disfuncional é caracterizado pelo aumento em seu diâmetro (até 20 vezes), pela secreção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF alfa) e pela redução na produção de citocinas anti-inflamatórias e sensibilizadores de insulina (34). Dessa forma, essa perda de função pelo tecido adiposo está relacionada a um estado inflamatório crônico sistêmico, relacionado, não somente à progressão da DHGNA, tendo em vista que esses adipócitos ectópicos estão distribuídos em todos órgãos e tecidos de nosso organismo, mas também ao risco cardiovascular aumentado(33).

A DHGNA é geralmente assintomática ou associada a sintomas inespecíficos como fadiga ou dor em hipocôndrio direito, sendo geralmente um achado incidental durante realização de um exame de imagem. Não existe nenhum achado característico no exame físico, mas é geralmente associada a obesidade central e hepatomegalia. A *acantose nigricans* é outra manifestação relacionada à resistência insulínica, encontrada em pacientes portadores de DHGNA (4). Em estudo realizado por Cheung *et al.* (35), avaliando a distribuição de gordura corporal e a severidade da EHNA, o único preditor de severidade da doença hepática foi a deposição de gordura em região dorsocervical (giba costal). Com a progressão da doença, o paciente passa a apresentar estigmas da hepatopatia crônica como eritema palmar, telengectasias, ginecomastia e circulação abdominal proeminente.

As enzimas hepáticas, especialmente a alanina aminotransferase (ALT), não são marcadores seguros na avaliação de severidade e do risco de progressão da doença hepática gordurosa, possuindo uma especificidade e sensibilidade estimada em 45% e 85%, respectivamente no diagnóstico de EHNA (4). A doença hepática gordurosa pode manifestar todas as graduações de alterações histopatológicas de sua progressão, mesmo com níveis normais de ALT(36). A elevação dessa enzima, conforme Maximos *et al.*(37) está mais relacionada à concentração de lipídeos no parênquima hepático e à resistência insulínica. Nesse estudo, cerca de 30 a 60% dos pacientes com diagnóstico histológico de EHNA, possuíam níveis normais de ALT.

A ultrassonografia é o método de imagem mais utilizado na avaliação da esteatose hepática, devido ao seu custo, disponibilidade e segurança. Possui boa sensibilidade no diagnóstico quando o conteúdo hepático de gordura é de até 30%. Abaixo desse valor, sua acurácia diminui. Em estudo realizado por Dasarathy *et al.* (38), foi demonstrada a alta especificidade da ecografia abdominal na detecção de esteatose hepática, entretanto essa é subestimada quando o conteúdo de gordura é menor que 20%. Dessa forma, a ultrassonografia é um bom método para avaliação inicial de esteatose hepática, além de ser importante na quantificação de gordura no parênquima hepático, que é um marcador da síndrome metabólica, independente da presença de EHNA (39).

A avaliação não invasiva da esteatose hepática também pode ser feita através da tomografia computadorizada, baseada na atenuação do raio-X que pode ser medida objetivamente com alta precisão. Entretanto, existem outros fatores que

podem alterar atenuação do parênquima hepático, como o conteúdo de ferro, cobre, glicogênio ou mesmo o uso de amiodarona, interferindo na análise. Além disso, assim como a ultrassonografia, tem a desvantagem de não avaliar de forma adequada acúmulos leve e moderado de gordura no parênquima hepático, além de ser um exame de alto custo que utiliza radiação. A ressonância magnética, utilizando a espectroscopia, também pode ser utilizada e possui boa acurácia diagnosticando quantidades de gordura hepática tão baixas quanto 5,56%, entretanto possui utilização limitada devido ao seu alto custo e acesso restrito (40).

Em relação a evolução da DHGNA, Angulo *et al.* (41) demonstraram que a fibrose foi o único preditor de descompensação e morte relacionado à doença hepática. Dessa forma, foram desenvolvidos inúmeros escores não-invasivos para avaliar fibrose. Dentre esses, o *NAFLD fibrosis score (NAS)* é um modelo validado e que pode prever desfechos relacionados à doença hepática. O *NAS* é calculado utilizando dados clínicos e laboratoriais (idade, IMC, presença ou ausência de hiperglicemia, contagem de plaquetas, albumina e razão ALT/Aspartato Aminotransferase [AST]), identificando os pacientes com doença mais severa e que, portanto, devem realizar biópsia hepática (42). No intuito de avaliação não-invasiva de fibrose, os exames de imagem também podem ser utilizados, sendo a elastografia hepática transitória (*Fibroscan®*) e a elastografia por ressonância magnética (MRE) os mais estudados. Ambos os métodos são válidos na diferenciação de graus avançados e leves de fibrose, mas falham na identificação de graus intermediários (43,44).

A esteatose hepática simples está relacionada com uma evolução benigna, ao passo que a EHNA está associada com evolução para fibrose hepática, cirrose e carcinoma hepatocelular, sendo importante identificar esses pacientes. A biópsia hepática é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico, porém é um procedimento invasivo que apresenta riscos associados, além de estar sujeita a erro amostral (4). Dessa forma, a avaliação não-invasiva da EHNA tem gerado interesse no desenvolvimento de escores clínico-laboratoriais e biomarcadores para identificar esses pacientes, dentre os portadores de DHGNA.

A citoqueratina 18 (CK18), dentre os biomarcadores, tem sido o mais estudado. A CK18 consiste em um produto da degradação do hepatócito, sendo parte constituinte do citoesqueleto do hepatócito. Na EHNA, o hepatócito, devido ao estresse oxidativo associado a outros fatores agressores, sofre balonização com

ruptura de seu citoesqueleto e formação dos corpúsculos de Mallory, que são ricos em citoqueratina. Essas células, ao sofrerem apoptose, mediada por enzimas como a caspase 3, liberam fragmentos proteicos na corrente sanguínea, dentre eles a CK18. Dessa forma, a dosagem desse constituinte é um marcador de lesão celular (45). Em estudo de Maher *et al.* (45), avaliando 90 pacientes, foi encontrada uma especificidade de 95% e uma sensibilidade de 76%, utilizando como ponto de corte um nível de CK18 de 240 U/mL. Outro estudo de Cusi *et al.* (46), também verificou uma boa especificidade da CK18 para EHNA, mas uma sensibilidade entre 54 e 58% para EHNA e fibrose, respectivamente. Entretanto, mesmo com resultados promissores, esse biomarcador ainda se encontra restrito ao meio acadêmico, necessitando de mais estudos para definição do ponto de corte mais adequado (19).

O papel da genética é outra área de interesse no campo da DHGNA. Essa hipótese surgiu a partir da observação de forte associação da DHGNA com história familiar de resistência insulínica e diabetes (44,47). Posteriormente, em estudo de Schiurmer *et al.* (48), foi também observada a presença de DHGNA em irmãos e pais de crianças acometidas pela doença, sendo então levantada a hipótese da hereditariedade. A mutação do gene *PNPLA3*, descrita por Romeo *et al.* (49), foi a primeira identificada e está fortemente associada à DHGNA, sendo inclusive relacionada à variação da manifestação, entre diferentes populações. Nesse estudo, os autores observaram uma alta prevalência dessa mutação entre mexicanos quando comparados a americanos negros que, sabidamente, possuem uma menor incidência dessa doença. Em outro estudo, Chalasani *et al.* (50) encontraram associação entre o NAS e cinco genes, a saber: *FDFT1*, *COL13A1*, *SNP*, *LTBP3* e *EFCA4B4*. Assim, o papel dos genes na DHGNA vêm sendo demonstrado, sendo o *PNPLA3* aquele que tem mutação com associação mais forte. O entendimento dos fatores genéticos associados à DHGNA possibilitará identificar a população em risco e, talvez no futuro, possibilitar o desenvolvimento de novas terapêuticas (51).

A biópsia hepática é um método invasivo, sujeito a erro amostral e associado a raras, mas potencialmente graves, complicações. Estudo realizado em nosso meio, analisando 1995 biópsias hepáticas percutâneas sem o auxílio de ultrassonografia observou morbidade de apenas 0,3%, sem mortalidade, o que reforça a ideia de ser um procedimento seguro (52). Assim, mesmo com riscos associados, tendo em vista sua importância no diagnóstico da EHNA e da fibrose hepática, a biópsia desempenha ainda um papel fundamental no manejo da

DHGNA(25,53). Dessa forma, conforme Chalasani *et al.* (19), independentemente da elevação de aminotransferases, qualquer paciente com esteatose hepática e diagnóstico de síndrome metabólica apresenta alto risco para EHNA e graus avançados de fibrose hepática, devendo ser considerada a realização de biópsia hepática nesse grupo de pacientes. Como alternativa, na seleção de pacientes para realização de biópsia hepática, pode ser utilizado o NAS para identificar pacientes em risco de EHNA e fibrose avançada.

O tratamento da DHGNA continua sendo, fundamentalmente, baseado na dieta e perda ponderal. A perda ponderal é benéfica e o grau de melhora histológica é diretamente proporcional à quantidade de peso perdida (54). Em estudo realizado por Gomez-Vilar *et al.* (55), foi avaliado o efeito da mudança de estilo de vida em 293 pacientes, mostrando uma melhora dos padrões histológicos (inflamação e fibrose) e redução do NAS quando houve uma redução maior que 10% do peso corporal. Outros autores (54) avaliando 159 pacientes, comparam um grupo com mudança de estilo de vida associado à atividade física com outro grupo controle, que recebia orientações dietéticas gerais, mostraram resolução da DHGNA em 64% dos pacientes no grupo da intervenção contra 20% nos pacientes que receberam orientações gerais. Evidências apontam para a dieta mediterrânea como uma opção no tratamento, embora ainda faltem estudos que corroborem essa hipótese (56). Com relação ao padrão de atividade física, as atividades aeróbicas vêm se mostrando superiores às atividades de resistência na redução na gordura visceral e hepática, independentes da perda de peso (57,58). No caso de pacientes incapazes de atingir a redução de peso, a cirurgia bariátrica deve ser aventada como possível terapêutica. Um estudo realizado por Taitano *et al.*(59), no seguimento de 5 anos, demonstrou redução ou resolução da EHNA ou mesmo da fibrose.

O tratamento farmacológico da DHGNA ainda não está bem definido, havendo muitas drogas em estudo, mas ainda nenhuma droga específica aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (4). A pioglitazona, como medicação sensibilizadora à insulina, encontra um racional no seu uso em pacientes com DHGNA, pois a resistência insulínica é uma peça chave. O estudo PIVENS avaliou a resposta à pioglitazona e vitamina E, ambos contra placebo, e foi o primeiro estudo randomizado a mostrar uma melhora histológica convincente em pacientes com DHGNA. Nesse estudo, cujo desfecho primário era a resolução da balonização hepática, apenas a vitamina E atingiu o desfecho primário, mas a pioglitazona

mostrou melhora na esteatose hepática, inflamação, resistência insulínica e nos níveis de enzimas hepáticas (60).

Outro estudo randomizado demonstrou melhora histológica, inclusive na fibrose, em pacientes não-diabéticos (61). Entretanto, nenhum desses estudos foi desenhado para avaliação de fibrose, limitando as conclusões. Dessa forma, a pioglitazona pode ser usada em pacientes com EHNA diabéticos ou não, mas sua eficácia não foi testada em pacientes portadores de cirrose hepática (4,60).

A vitamina E, devido a suas propriedades antioxidantes, vem sendo estudada no tratamento da DHGNA, pois as espécies reativas do oxigênio, ou radicais livres, são consideradas determinantes na progressão da mesma, gerando lesão no hepatócito. Tem sido demonstrado que seu uso está associado à redução de aminotransferases, melhora do padrão histológico (esteatose, inflamação) até mesmo com resolução da esteatohepatite, embora não possua efeito sobre a fibrose (60). Conforme metanálise de Musso *et al.* (62) analisando o tratamento da DHGNA, os estudos que embasam seu uso são heterogêneos, utilizando critérios de inclusão distintos, associações com outras medicações, além de dosagens e formulações distintas da vitamina E. Embora considerada uma droga segura, a vitamina E vem sendo associada ao câncer de próstata (63). Na dose de 800mg/dia, é considerada como tratamento de primeira linha em pacientes com EHNA comprovada por biópsia em não-diabéticos (19).

As estatinas parecem ter um efeito benéfico na EHNA, sendo associadas à melhora dos níveis de transaminases e da histologia. Entretanto, esses achados são baseados em estudos pequenos e não desenhados para avaliar esses desfechos (64). Assim, essas drogas não devem ser usadas para o tratamento específico da DHGNA (19).

Recentemente, novos fármacos, como o ácido obeticólico e a liraglutida, vêm sendo testados na terapêutica da DHGNA. O ácido obeticólico, um potente modulador da sensibilidade insulínica, demonstrou melhora em parâmetros histológicos e laboratoriais (65). Demonstrou também melhora na fibrose e balonização hepatocitária, em metanálise recente (66). A liraglutida é um análogo humano do *glucagon-like peptide-1* (GLP-1) com potente efeito hipoglicemiante, através do estímulo à secreção de insulina que demonstrou sua segurança e melhora, tanto de padrões laboratoriais como histológicos hepáticos, em estudo recente (67).

O tratamento das doenças cardiovasculares e de fatores que conferem aumento do risco cardiovascular devem ser enfatizados e tratados de forma agressiva, tendo em vista serem a principal causa de mortalidade nos pacientes portadores de DHGNA (4).

## **2.3 ADIPOCINAS**

A obesidade é considerada um estado de inflamação sistêmica crônica. O tecido adiposo, além de sua função básica e reconhecida de fracionamento e armazenamento de triglicerídeos, apresenta uma função central na homeostase energética do organismo, sendo considerado um órgão endócrino ativo, exercendo seu papel através da secreção de citocinas pelos adipócitos, denominadas adipocinas (68). Essas substâncias possuem atuação central, periférica e local, modulando a função dos tecidos alvo. Indivíduos obesos ou portadores de síndrome metabólica apresentam, sabidamente, uma disfunção do tecido adiposo, com produção de adipocinas que estão diretamente relacionadas à resistência insulínica e a outras alterações metabólicas (9). Essa alteração da função do tecido adiposo decorre de adipócitos hipertrofiados, disfuncionais, infiltrados por macrófagos, promovendo inflamação e produção de citocinas pró-inflamatórias (69). Ao passo que, após redução do aporte calórico e consequente redução ponderal, é observada a normalização de parâmetros metabólicos, assim como dos níveis séricos de adipocinas, como verificaram Thrakhtenbroit *et al.* (70) após a realização de cirurgia bariátrica e Monzilo *et al.* (71) após modificação do estilo de vida em obesos.

As adipocinas representam um grupo heterogêneo de mediadores inflamatórios, dentre os quais podemos citar a leptina, a resistina, a adiponectina, o  $TNF\alpha$ , a IL-6, a visfatina e a proteína carreadora do retinol 4 (RBP4), entre outras(32).

### **2.3.1 ADIPONECTINA**

A adiponectina é uma proteína com cerca de 30-kDa, abundante no plasma, representando cerca de 0,01% das proteínas plasmáticas, sendo rapidamente eliminada, através do fígado, possuindo uma meia-vida de cerca de 75

minutos(72,73). Essa adipocina é secretada exclusivamente por adipócitos em condições normais, sendo, no entanto, observada em modelos animais a expressão de mRNAs de adiponectina em hepatócitos, em determinadas situações (74).

A síntese e a secreção da adiponectina são reguladas por diversos mecanismos. Entre eles, podemos citar a insulina e o *insuline-like growth factor 1* (IGF-1) como estimulantes, conforme demonstrado por Halleux *et al.*(75), em tecido adiposo humano isolado. O mesmo estudo também demonstrou sua redução associada a administração de corticóides. As tiazolidinedionas, fármacos antidiabéticos, também têm parte de seu efeito hipoglicemiante mediado pelo estímulo da secreção de adiponectina (76). Em contrapartida, o  $TNF\alpha$ , cujo aumento está associado à obesidade, possui efeito inibitório sobre a secreção de adiponectina no tecido adiposo, reduzindo seus níveis circulantes (76).

A adiponectina, ao contrário da grande parte das citocinas produzidas pelo tecido adiposo, apresenta níveis séricos reduzidos em estados de sobrepeso e obesidade. Essa, dentre as adipocinas, é a molécula que possui o mais potente papel como sensibilizador da insulina, além de possuir atividade antiinflamatória, anti-apoptótica e pró-angiogênica (77). Conforme Pagano *et al.* (78), seus níveis séricos foram encontrados em uma concentração entre 20 e 60% abaixo do normal em pacientes portadores de DHGNA, quando comparados a controles saudáveis.

Essa adipocina está relacionada à redução da concentração plasmática de ácidos graxos e triglicerídeos, sendo associada à oxidação dessas substâncias no tecido muscular, efeitos demonstrados em modelos animais por Fruebis *et al.*(79). Além disso, também possui um efeito protetor contra o desenvolvimento de esteatose hepática, sendo negativamente correlacionada com níveis séricos de lipoproteínas de alta densidade (HDL), além de estar relacionada a níveis mais baixos de triglicerídeos e de apolipoproteína B (apoB) (80).

Existem evidências de que a adiponectina está associada ao catabolismo de ácidos graxos e melhora na resistência insulínica, sendo inclusive relacionada como um fator de proteção contra o desenvolvimento do diabetes (81,82). Outra ação da adiponectina, através da porção terminal de sua molécula, é estimular a função de receptores de insulina em músculos esqueléticos (83) e de reduzir a gliconeogênese hepática (84). Tem sido também associada à redução dos níveis de  $TNF\alpha$  (85).

A ocorrência de hipoglicemia, não acompanhada de alteração dos níveis de insulina ou glucagon, tem sido relacionada com o aumento de sensibilidade à

insulina. Esse efeito pode ser explicado por, pelo menos, quatro mecanismos diferentes a oxidação elevada de lipídeos, a melhora da sinalização no nível dos receptores, a inibição da gliconeogênese e a inibição do  $TNF\alpha$  (85).

O índice de massa corporal e o nível sérico de adiponectina, e não a resistência insulínica, são preditores da elevação dos níveis de ALT e gamaglutamiltransferase (GGT) em indivíduos caucasianos (86). Outro estudo, através de regressão multivariada, identificou a adiponectina isoladamente como preditor independente de esteatose hepática e elevação de ALT e GGT (87). Assim, seus níveis, na DHGNA, estão intimamente relacionados ao acúmulo de gordura no parênquima hepático e necro-inflamação e fibrose (88).

Duas proteínas transmembrana foram identificadas, a AdipoR1 e AdipoR2, como receptoras da adiponectina. Esses receptores foram encontrados, de forma mais abundante, no tecido muscular esquelético e moderadamente no tecido hepático (83). Embora exista uma correlação direta, bem documentada, entre níveis séricos reduzidos de adiponectina e doença hepática, uma associação entre a DHGNA e os níveis de receptores ainda não está bem estabelecida, com dados conflitantes na literatura (88).

### **2.3.2 LEPTINA**

A leptina é um hormônio peptídico constituído de 167 aminoácidos de 16kDa, produto do gene *ob*, descoberto *Zhang et al.* (89). Esse hormônio é secretado, principalmente, pelo tecido adiposo, podendo circular em sua forma livre no plasma ou ligada a proteínas. Em indivíduos obesos, esse circula predominantemente em sua forma livre, enquanto em pacientes magros circula ligado a proteínas (90). Os níveis séricos de leptina e sua concentração no tecido adiposo são proporcionais à quantidade de gordura corporal e ao balanço energético, possuindo níveis elevados em obesos e que aumentam na ingesta calórica excessiva (91). As mulheres, independente da massa de gordura, possuem níveis circulantes de leptina superiores ao dos homens, o que pode ser resultado de um estímulo estrogênico ou mesmo resultado do papel supressor dos hormônios andrógenos sobre a produção de leptina (92).

A leptina possui múltiplos efeitos sobre o metabolismo energético do organismo, sendo implicada na gênese da EHNA e na sua progressão para fibrose

hepática. Inicialmente, foi descrito seu papel como anorexigênico, atuando diretamente no sistema nervoso central, diminuindo a ingestão calórica, além de aumentar o gasto energético (93). Entretanto, em obesos seus níveis são elevados, provavelmente secundários a um estado de “resistência à leptina”. Além dessas funções, essa citocina também modula a composição da gordura corporal, a atividade da insulina, a termogênese e a atividade do sistema imunológico (32). Outra ação da leptina é a redução da transcrição do gene codificador da insulina e redução da sua excreção plasmática, contribuindo para a resistência insulínica (94).

Esse hormônio é implicado na gênese da EHNA e em sua progressão, inicialmente contribuindo para o desenvolvimento da resistência insulínica e esteatose hepática e posteriormente para a injúria hepática através de seu efeito pró-inflamatório, promovendo a fibrose hepática (95). A ativação das células estreladas é fundamental para o desenvolvimento da fibrose, pois essas se tornam responsivas a inúmeras citocinas, produzindo componentes da matriz celular que no seu último estágio levam a fibrose. Essas células, quando ativadas, expressam leptina, que se comporta como uma citocina pró-fibrogênica. Além disso, a leptina está associada ao aumento do *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ), uma citocina sabidamente relacionada à fibrose, e também ao aumento da produção de TNF $\alpha$ , outra citocina sabidamente pró-inflamatória, também contribuindo para a progressão a fibrose (96). Ikejima *et al* (97) identificaram as células endoteliais sinusoidais e as células de *Kupfer* como os principais alvos do estímulo à fibrose relacionado a leptina. Além disso, demonstraram, em estudos animais, uma resposta fibrogênica menor, na ausência ou em estados de resistência à leptina (98).

Embora tenham sido observados inicialmente níveis elevados de leptina em pacientes portadores de EHNA, quando comparados a controles saudáveis, isso não se confirmou em dados mais recentes. Portanto, atualmente, a leptina não pode ser usada, de forma inequívoca, como marcador não-invasivo de atividade da DHGNA (68).

### 2.3.3 RESISTINA

A resistina é uma proteína de baixo peso molecular, com cerca de 12,5 kDa, rica em cisteína, secretada pelo tecido adiposo e macrófagos, sendo associada à resistência insulínica e intolerância à glicose (99). É expressa por praticamente

todas células adiposas, embora níveis maiores sejam expressos em leucócitos mononucleares, macrófagos, medula óssea e baço. Sua produção é estimulada por citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e  $TNF\alpha$ ) (100). Possui sua ação fundamentalmente sobre o parênquima hepático e os hepatócitos, mas também possui efeitos sobre as células musculares esqueléticas e tecido adiposo (101).

Em estudo experimental, *Rangwala et al.* (102) demonstraram aumento da glicemia em jejum e resistência insulínica associadas à hiperresistinemia. Atribuíram essa elevação ao aumento da gliconeogênese hepática, através das enzimas *PEPCK* e *G6Pase*. No tecido muscular esquelético, parece reduzir a captação e metabolismo de ácidos graxos, contribuindo para resistência insulínica, através da indução da proteína *SOCS-3*, conhecida por inibir a sinalização da insulina (103). Essa citocina possui efeito pró-inflamatório, estimulando a produção de  $TNF\alpha$  e IL-12 em macrófagos e regula a secreção do IL-6 e TGF- $\beta$  (68). Além disso, também é implicada na fibrose hepática, através de seu estímulo sobre as células hepáticas estreladas (104).

#### **2.3.4. ADIPOCINAS E ATIVIDADE DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**

O diagnóstico da DHGNA ainda é baseado em critérios histopatológicos, onde observa-se a ocorrência de esteatose hepatocelular, em pacientes sem histórico de consumo excessivo de álcool (> 210 gramas/semana em homens / > 140 gramas/semana em mulheres) (19). A presença de esteatose, balonização hepatocelular e inflamação lobular são os critérios mínimos para o diagnóstico de EHNA (24). Métodos não-invasivos possuem baixa especificidade e sensibilidade para o diagnóstico, permanecendo a biópsia hepática como o “padrão-ouro”.

O tecido adiposo visceral é fonte de inúmeras proteínas ativas, as adipocinas, que contribuem para o desenvolvimento da DHGNA e EHNA. Dentre elas podemos destacar a adiponectina, leptina, resistina,  $TNF\alpha$  e o IL-6. Essas citocinas tem um papel importante, não apenas na resistência insulínica, mas também na regulação e mediação do processo inflamatório e progressão da DHGNA (95).

A relação da adiponectina com a DHGNA, inicialmente verificada em modelos animais, foi também observada em humanos. Inicialmente, Hui *et al.* (105),

analisando 109 pacientes obesos com DHGNA, compararam os achados histopatológicos com os níveis de adiponectina e  $TNF\alpha$ . Os dados implicaram a hipoadiponectinemia como fator de risco independente para esteatose hepática e atividade necroinflamatória, não encontrando correlação entre os níveis de  $TNF\alpha$  e os níveis de seu receptor *tumor necrosis factor receptor 2* (TNFR2) com achados histopatológicos. Posteriormente esses dados foram corroborados por Targher *et al.* (87) em estudo que analisou o perfil dessa proteína em 60 pacientes com DHGNA, comparando com outros 60 controles saudáveis. Os resultados demonstraram níveis reduzidos de adiponectina em portadores de DHGNA e EHNA, além dessa proteína ser um preditor independente da severidade da esteatose e atividade necroinflamatória, mas, assim como em Hui *et al.* (105), também não houve relação com fibrose.

A população pediátrica também foi estudada por Manco *et al.* (106), que avaliaram 72 pacientes pediátricos, todos com DHGNA comprovada por biópsia, e seus níveis séricos de leptina e  $TNF\alpha$  associados aos achados histopatológicos e com a atividade da DHGNA. Esse estudo verificou uma forte correlação entre os níveis de  $TNF\alpha$  e os achados na biópsia e mostrou que a combinação da leptina e fator de necrose tumoral alfa podem também ser usados como marcadores de atividade da DHGNA.

Argentou *et al.* (107) avaliaram 50 pacientes submetidos à cirurgia bariátrica, comparando o resultado de biópsias hepáticas transoperatórias com os níveis séricos de leptina, adiponectina e resistina. Como resultado encontraram uma relação inversa entre os níveis de adiponectina e a atividade da doença, inflamação lobular e grau de fibrose. A resistina apresentou uma relação inversa com o percentual de parênquima acometido pela esteatose, mas não com outros parâmetros histopatológicos. A leptina não foi correlacionada com quaisquer parâmetros histológicos. A relação leptina/adiponectina foi relacionada positivamente com o estágio da fibrose. Dessa forma, concluíram que a adiponectina, em níveis diminuídos, é indicador de doença hepática avançada. Além disso, níveis reduzidos de resistina indicam esteatose hepática mais extensa.

Dessa forma, o papel das adipocinas no desenvolvimento e progressão da DHGNA parece relevante, reforçando a possibilidade do seu uso como marcador não-invasivo na DHGNA.

### **3. JUSTIFICATIVA**

A obesidade é uma epidemia de proporções mundiais, motivando um grande número de estudos que investigam os fatores associados à sua etiologia. As adipocinas vêm sendo estudadas de forma crescente, recebendo destaque pela repercussão na resistência insulínica e no desenvolvimento e progressão da DHGNA.

O presente estudo avalia os níveis de adipocinas, não somente no sangue, mas também sua expressão nos tecidos subcutâneo e visceral, comparando suas concentrações com os achados histopatológicos hepáticos, provendo dados que futuramente poderão ser úteis no estabelecimento de métodos não-invasivos para avaliação da atividade da DHGNA.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO PRINCIPAL**

O presente estudo pretende investigar os níveis de adipocinas em pacientes obesos mórbidos submetidos à cirurgia bariátrica em comparação com diferentes graus de DHGNA, avaliando o potencial destes parâmetros como marcadores de sua evolução.

### **4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS**

- Avaliar os níveis de adipocinas (adiponectina, leptina e resistina) no sangue e sua expressão no tecido subcutâneo e visceral na população de obesos mórbidos submetidos a cirurgia bariátrica;
- Verificar a relação entre os níveis de adipocinas (adiponectina, leptina e resistina) e os achados histopatológicos hepáticos.

## 5. REFERÊNCIAS:

1. Lau DCW, Douketis JD, Morrison KM, Hramiak IM, Sharma AM, Ur E. 2006 Canadian clinical practice guidelines on the management and prevention of obesity in adults and children [summary]. *Can Med Assoc J.* 2007;176(8):S1–13.
2. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(3):274–85.
3. Review T, LaBrecque DR, Abbas Z, Anania F, Ferenci P, Khan AG, Goh KL, Hamid SS, Isakov V, Lizarzabal M, Penaranda MM, Ramos JF, Sarin S, Stimac D, Thomson AB, Umar M, Krabshuis J LA. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2014;48(6):467–73.
4. Rinella ME. Nonalcoholic Fatty Liver Disease A Systematic Review. *JAMA.* 2015;169(2):170.
5. Tsigos C, Hainer V, Basdevant A, Finer N, Fried M, Mathus-Vliegen E, et al. Management of obesity in adults: European clinical practice guidelines. *Obes Facts.* 2008;1(2):106–16.
6. ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010. 3º ed. 2009.
7. Shalhub S, Parsee A, Gallagher SF, Haines KL, Willkomm C, Brantley SG, et al. The Importance of Routine Liver Biopsy in Diagnosing Nonalcoholic Steatohepatitis in Bariatric Patients. *Obes Surg.* 2004;14(1):54–9.
8. Mahawar KK, Parmar C, Graham Y, Abouleid A, Carr WRJ, Jennings N, et al. Routine Liver Biopsy During Bariatric Surgery: an Analysis of Evidence Base. *Obes Surg.* 2016;26(1):177–81.
9. Deng Y, Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;(1212):1–25.
10. Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;27(5):412–21.
11. National Institute of Health. The Practical Guide Identification , Evaluation , and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. NIH Publ. 2000;00-4084:94.

12. Ministério da Saúde. DATASUS [Internet]. Departamento de Informática do SUS. 2013. p. [<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=02>]
13. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. VIGITEL Brasil 2013. Ministério da Saúde do Bras Secr Vigilância em Saúde. 2014;120p.: il. – Série G. Estatística e Informação em Saúde.
14. Farooqi S, O’Rahilly S. Genetic factors in human obesity. *Obes Rev.* 2007;8(Supl. 1):37–40.
15. Silva CES, Paola A De, Nobrega ACL, Mady C, Rossi P, Sp AM, et al. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84(Suplemento I):1–28.
16. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a World Health Organization Consultation. Genova: World Health Organization,2000.p256.WHO Obesity Technical Report Series, n.284
17. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CW. Body-Mass Index and Mortality in a Prospective Cohort. *N Engl J Med.* 1999;341(15):1097–105.
18. Slentz CA, Duscha BD, Johnson JL, Ketchum K, Aiken LB, Samsa GP, et al. Effects of the Amount of Exercise on Body Weight, Body Composition, and Measures of Central Obesity. *Arch Intern Med.* 2004;164(1):31–9.
19. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology.* 2012;142(7):1592–609.
20. Losekann A, Weston A, de Mattos A, Tovo C, de Carli L, Espindola M, et al. Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH): Risk Factors in Morbidly Obese Patients. *Int J Mol Sci.* 2015;16(10):25552–9.
21. Losekann A, Weston AC, Carli LA, Espindola MB, Pioner SR, Coral GP. Nonalcoholic Fatty liver disease in severe obese patients, subjected to bariatric surgery. *Arq Gastroenterol.* 2013;50(4):285–9.
22. WGO Global Guidelines. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *World Gastroenterol Organ Guidel.* 2012;(June).
23. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 1980;55(7):434–8.

24. 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.
25. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver vs Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-analysis of Paired-Biopsy Studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Elsevier, Inc; 2015;13(4):643–54.
26. Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, Bedossa P, Lebray P, Poynard T, et al. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J Hepatol*. 2013;59(3):550–6.
27. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Yao Chang Liu, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: A spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 1999;116(6):1413–9.
28. 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(1):113–21.
29. Bhala N, Angulo P, van der Poorten D, Lee E, Hui JM, Saracco G, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis or cirrhosis: An international collaborative study. *Hepatology*. 2011;54(4):1208–16.
30. Day CP, James OFW. Steatohepatitis: A tale of two “Hits”? *Gastroenterology*. 1998;114(4 I):842–5.
31. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sentürk H. From fatty liver to fibrosis: A tale of “second hit”. *World J Gastroenterol*. 2013;19(8):1158–65.
32. Stojšavljević S, Gomerčić Palčić M, Virović Jukić L, Smirčić Duvnjak L, Duvnjak M. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(48):18070–91.
33. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*. 2013;5(5):1544–60.
34. Morelli M, Gaggini M, Daniele G, Marraccini P, Sicari R, Gastaldelli A. Ectopic fat: The true culprit linking obesity and cardiovascular disease? *Thromb*

- Haemost. 2013;110(4):651–60.
35. Cheung O, Kapoor A, Puri P, Sistrun S, Luketic VA, Sargeant CC, et al. The impact of fat distribution on the severity of nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hepatology*. 2007;46(4):1091–100.
  36. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology*. 2003;37(6):1286–92.
  37. Maximos M, Bril F, Portillo Sanchez P, Lomonaco R, Orsak B, Biernacki D, et al. The role of liver fat and insulin resistance as determinants of plasma aminotransferase elevation in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2015;61(1):153–60.
  38. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: A prospective study. *J Hepatol*. 2009;51(6):1061–7.
  39. Arulanandan A, Ang B, Bettencourt R, Hooker J, Behling C, Lin GY, et al. Association Between Quantity of Liver Fat and Cardiovascular Risk in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease Independent of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(8):1513–20.
  40. Reeder SB. Quantitative Assessment of Liver Fat with Magnetic Resonance. *J Magn Reson Imaging*. 2012;34(4):1–38.
  41. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatchoenwittaya P, et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2015;149(2):389–97.
  42. 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.
  43. Myers RP, Elkashab M, Ma M, Crotty P, Pomier-layrargues G. Transient elastography for the noninvasive assessment of liver fibrosis: A multicentre Canadian study. *Can J Gastroenterol*. 2010;24(11):661–70.
  44. Looma R, Abraham M, Unalp A. Association between diabetes, family history of diabetes and risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Hepatology*. 2012;56(3):943–51.
  45. Maher MM, Ibrahim WA, Saleh SA, Shash L, Abou Gabal H, Tarif M, et al.

- Cytokeratin 18 as a non invasive marker in diagnosis of NASH and its usefulness in correlation with disease severity in Egyptian patients. *Egypt J Med Hum Genet*. Production and hosting by Elsevier B.V.; 2015;16(1):41–6.
46. Cusi K, Chang Z, Harrison S, Lomonaco R, Bril F, Orsak B, et al. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2014;60(1):167–74.
  47. Abdelmalek MF, Liu C, Shuster J, Nelson DR, Asal NR. Familial Aggregation of Insulin Resistance in First-Degree Relatives of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(9):1162–9.
  48. Schiwwimmer J, Celedon M, Lavine J, Salem R, Campbell N, Schork N, et al. Heritability of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2009;136(5):1585–92.
  49. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic Variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40(12):1461–5.
  50. Chalasani N, Guo X, Loomba R, Goodarzi MO, Haritunians T, Kwon S, et al. Genome-Wide Association Study Identifies Variants Associated with Histologic Features of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2010;139(5):1567–76.
  51. Hernaez R. Genetic factors associated with the presence and progression of nonalcoholic fatty liver disease: A narrative review. *Gastroenterol Hepatol*. 2012;35(1):32–41.
  52. D’Incao RB, Appel-da-Silva MC, Almeida PR de L, Renon VP, Tovo CV. Percutaneous liver biopsy--2 decades of experience in a public hospital in the South of Brazil. *Ann Hepatol*. 2013;12(6):8–12.
  53. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stal P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61(5):1547–54.
  54. Wong VW, Chan RS, Wong GL, Cheung BH, Chu WC, Yeung DK, et al. Community-based lifestyle modification programme for non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *J Hepatol*. 2013;59(3):536–42.
  55. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss via Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis.

- Gastroenterology. 2015;149(2):367–78.
56. Sofi F, Casini A. Mediterranean diet and non-alcoholic fatty liver disease: new therapeutic option around the corner? *World J Gastroenterol.* 2014;20(23):7339–46.
  57. Slentz CA, Bateman LA, Willis LH, Shields AT, Tanner CJ, Piner LW, et al. The Effects of Aerobic versus Resistance Training on Visceral and Liver Fat Stores, Liver Enzymes and HOMA from STRRIDE AT/RT: A Randomized Trial. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301(5):E1033–9.
  58. Johnson NA, Sachinwalla T, Walton DW, Smith K, Armstrong A, Thompson MW, et al. Aerobic exercise training reduces hepatic and visceral lipids in obese individuals without weight loss. *Hepatology.* 2009;50(4):1105–12.
  59. Taitano A a., Markow M, Finan JE, Wheeler DE, Gonzalvo JP, Murr MM. Bariatric Surgery Improves Histological Features of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fibrosis. *J Gastrointest Surg.* 2014;19(3):429–37.
  60. Arun J. Sanyal, Chalasani N, Lavine JE, Tonascia J. Pioglitazone, Vitamin E, or Placebo for Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2010;362(18):1675–85.
  61. Aithal GP, Thomas JA, Kaye P V., Lawson A, Ryder SD, Spendlove I, et al. Randomized, Placebo-Controlled Trial of Pioglitazone in Nondiabetic Subjects With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2008;135(4):1176–84.
  62. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010;52(1):79–104.
  63. Klein E a, Jr IMT, Tangen CM, John J, Lucia MS, Goodman PJ, et al. Vitamin E and the Risk of Prostate Cancer: Updated Results of The Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *J Am Med Assoc.* 2011;306(14):1549–56.
  64. Foster T, Budoff MJ, Saab S, Ahmadi N, Gordon C, Guerci AD. Atorvastatin and antioxidants for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: the St Francis Heart Study randomized clinical trial. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(1):71–7.
  65. Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Sanyal AJ, Lavine JE, Natta ML Van, Abdelmalek MF, et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-

- controlled trial. *Lancet*. 2015;516(7530):267–71.
66. Singh S, Khera R, Allen AM, Murad MH, Loomba R. Comparative effectiveness of pharmacological interventions for nonalcoholic steatohepatitis: A systematic review and network meta-analysis. *Hepatology*. 2015;62(5):1417–32.
  67. Eguchi Y, Kitajima Y, Hyogo H, Takahashi H, Kojima M, Ono M, et al. Pilot study of liraglutide effects in non-alcoholic steatohepatitis and non-alcoholic fatty liver disease with glucose intolerance in Japanese patients (LEAN-J). *Hepatol Res*. 2015;45(3):269–78.
  68. Lombardi R, Buzzetti E, Roccarina D, Tsochatzis EA. Non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2015;21(39):11044–52.
  69. Bays H. Central obesity as a clinical marker of adiposopathy; increased visceral adiposity as a surrogate marker for global fat dysfunction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014;21(5):345–51.
  70. Trakhtenbroit MA, Leichman JG, Algahim MF, Iii CCM, Moody FG, Lux TR. Levels Two Years After Two Types of Bariatric. *Am J Med*. 2009;122(5):435–42.
  71. Monzillo LU, Hamdy O, Horton ES, Ledbury S, Mulooly C, Jarema C, et al. Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. *Obes Res*. 2003;11(9):1048–54.
  72. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257(1):79–83.
  73. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de lasio R, et al. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(6):3498–504.
  74. Yoda-Murakami M, Taniguchi M, Takahashi K, Kawamata S, Saito K, Choi-Miura NH, et al. Change in expression of GBP28/adiponectin in carbon tetrachloride-administrated mouse liver. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;285(2):372–7.
  75. Halleux CM, Takahashi M, Delporte ML, Detry R, Funahashi T, Matsuzawa Y, et al. Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*.

- 2001;288(5):1102–7.
76. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Others. PPAR $\gamma$  ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin. *Diabetes*. 2001;50(9):2094–9.
  77. Rajala MW, Scherer PE. Minireview: The adipocyte - At the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology*. 2003;144(9):3765–73.
  78. Pagano C, Soardo G, Esposito W, Fallo F, Basan L, Donnini D, et al. Plasma adiponectin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol*. 2005;152(1):113–8.
  79. Fruebis J, Tsao T-S, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MRS, Yen FT, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Pnas*. 2001;98(4):2005–10.
  80. Zietz B, Herfarth H, Paul G, Ehling A, Müller-Ladner U, Schölmerich J, et al. Adiponectin represents an independent cardiovascular risk factor predicting serum HDL-cholesterol levels in type 2 diabetes. *FEBS Lett*. 2003;545(2-3):103–4.
  81. Boden G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2003;18(2):139–43.
  82. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet*. 2003;361(9353):226–8.
  83. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchiabe A, Yokomizo T, Kita S, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003;423(0028-0836):762–9.
  84. Combs TP, Berg AH, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest*. 2001;108(12):1875–81.
  85. Bełtowski J. Adiponectin and resistin – new hormones of white adipose tissue. *Med Sci Monit*. 2003;9(2):55–62.
  86. López-Bermejo A, Botas P, Funahashi T, Delgado E, Kihara S, Ricart W, et al. Adiponectin, hepatocellular dysfunction and insulin sensitivity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004;60(2):256–63.

87. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Scala L, Zenari L, et al. Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;64(6):679–83.
88. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2011;17(23):2801–11.
89. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425–32.
90. Brabant G, Nave H, Mayr B, Behrend M, Van Harmelen V, Arner P. Secretion of free and protein-bound leptin from subcutaneous adipose tissue of lean and obese women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(8):3966–70.
91. Zuo H, Shi Z, Yuan B, Dai Y, Wu G, Hussain A. Association between Serum Leptin Concentrations and Insulin Resistance: A Population-Based Study from China. *PLoS One*. 2013;8(1):e54615.
92. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, et al. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(9):3424–7.
93. Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. *Ann Intern Med*. 1999. p. 671–80.
94. Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA, Holz GG, Moritz W, Riccordi C, et al. Leptin Suppression on insulin secretion and gene expression in Human Pancreatic Islets: Implications for the development of Adipogenic Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(2):670–6.
95. Tsochatzis E, Papatheodoridis G V, Archimandritis AJ. The evolving role of leptin and adiponectin in chronic liver diseases. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(11):2629–40.
96. Marra F. Leptin and liver fibrosis: a matter of fat. *Gastroenterology*. 2002;122(5):1529–32.
97. Ikejima K, Takei Y, Honda H, Hirose M, Yoshikawa M, Zhang Y-J, et al. Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology*. 2002;122(5):1399–410.
98. Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, Hirose M, Kitamura T, Takei Y, et al. Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver

- induced by hepatotoxic chemicals. *Hepatology*. 2001;34(2):288–97.
99. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307–12.
  100. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol*. 2005;174:5789–95.
  101. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR $\alpha$  activators. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;300(2):472–6.
  102. Rangwala SM, Richa S, Rhoades B, Shapiro JS, Obici S, Rossetti L, et al. Abnormal Glucose Homeostasis due to Chronic Hyperresistinemia. *Diabetes*. 2004;53(8):1937–41.
  103. Steppan CM, Wang J, Whiteman EL, Birnbaum MJ, Lazar MA. Activation of SOCS-3 by resistin. *Mol Cell Biol*. 2005;25(4):1569–75.
  104. Bertolani C, Sancho-Bru P, Failli P, Bataller R, Aleffi S, DeFranco R, et al. Resistin as an intrahepatic cytokine: overexpression during chronic injury and induction of proinflammatory actions in hepatic stellate cells. *Am J Pathol*. 2006;169(6):2042–53.
  105. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF- $\alpha$  or adiponectin? *Hepatology*. 2004;40(1):46–54.
  106. Manco M, Marcellini M, Giannone G, Nobili V. Correlation of serum TNF- $\alpha$  levels and histologic liver injury scores in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Pathol*. 2007;127(6):954–60.
  107. Argentou M, Tiniakos DG, Karanikolas M, Melachrinou M, Makri MG, Kittas C, et al. Adipokine serum levels are related to liver histology in severely obese patients undergoing bariatric surgery. *Obes Surg*. 2009;19(9):1313–23.

## 6. ARTIGO CIENTÍFICO

### CORRELAÇÃO ENTRE ACHADOS NA HISTOPATOLOGIA HEPÁTICA E OS NÍVEIS DE ADIPOCINAS EM PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIA BARIÁTRICA

Elaborado de acordo com as normas da revista *OBESITY SURGERY*.

#### **Authors:**

Rafael Bergesch D’Incao – rafaelincao@hotmail.com

PhD. Cristiane Valle Tovo – cris.tovo@terra.com.br

PhD. Vanessa Suñé Mattevi – vmattevi@ufcspa.edu.br

Ms. Diego Olschowsky Borges – borges.biomed@gmail.com

PhD. Jane Maria Ulbrich – jmaria.ulbrich@gmail.com

PhD. Gabriela Perdomo Coral – g.coral@terra.com.br

Ms. Mauricio Jacques Ramos – mjr.ramos@terra.com.br

Nelson Guardiola Meinhardt – nelsonmeinhardt@gmail.com

#### **Correspond to:**

Rua São Manoel, 95 / 403; Bairro Rio Branco

CEP 90620-110; Porto Alegre / Brasil

**RESUMO:**

**INTRODUÇÃO:** A obesidade é uma doença de abrangência mundial, sendo implicada comprovadamente com inúmeras condições clínicas. Entre elas destaca-se a doença hepática gordurosa não-alcóolica (DHGNA), presente em cerca de 80% dos obesos e em até 95% dos obesos mórbidos. Atualmente, essa doença vem sendo compreendida como um estado inflamatório crônico, sendo associado à produção de inúmeras citocinas, conhecidas como adipocinas. O objetivo do presente estudo foi analisar os níveis de adipocinas no soro, na gordura visceral e na subcutânea, sendo comparados com os achados histopatológicos hepáticos em uma população de pacientes obesos mórbidos. **MÉTODOS:** foi realizado um estudo observacional descritivo retrospectivo, onde foram analisados os achados da biópsia hepática em pacientes submetidos a cirurgia bariátrica e que haviam realizado análise dos níveis de adipocinas (adiponectina, leptina e resistina) no tecido subcutâneo, visceral e no soro. Na avaliação das biópsias hepáticas realizadas durante o procedimento cirúrgico os espécimes obtidos foram avaliados conforme a classificação de *Kleiner*. **RESULTADOS:** foram analisados 25 pacientes obesos mórbidos submetidos à cirurgia bariátrica. Houve correlação estatisticamente significativa da idade e dos níveis de hemoglobina glicada com a esteatohepatite não-alcóolica (EHNA), bem como uma correlação inversa dos níveis séricos de leptina e resistina com os graus de esteatose e da resistina com a presença de fibrose. Não houve correlação entre expressão de adipocinas no tecido subcutâneo e visceral com os achados histopatológicos. **CONCLUSÃO:** nessa população de obesos mórbidos, os níveis de leptina se apresentaram reduzidos com o aumento do conteúdo hepático de gordura e os níveis séricos de resistina se mostraram diminuídos na presença, tanto de esteatose simples, como de EHNA. A idade avançada mostrou relação com EHNA e os níveis da hemoglobina glicada se mostraram elevados quando associados com a DHGNA, refletindo a resistência insulínica de forma indireta.

**ABSTRACT:**

**INTRODUCTION:** obesity is a worldwide disease, involved with many conditions. Among them there is non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), present in about 80% of obese and up to 95% of morbidly obese individuals. Nowadays, this disease is being understood as a chronic inflammatory state, associated with the production of several cytokines, known as adipokines. These are probably involved in the whole spectrum of NAFLD. The aim of the present study was to evaluate the serum levels of adipokines and their expression in the visceral and subcutaneous fat of morbidly obese patients undergoing bariatric surgery and to correlate this data with hepatic histopathology. **METHODS:** this is a retrospective descriptive observational study, which analyzed the liver biopsy in patients undergoing bariatric surgery and who had already performed analysis of adipokines (adiponectin, leptin and resistin) in subcutaneous, visceral tissue and serum. The hepatic specimens, obtained during surgery, were evaluated according to Kliener's classification. **RESULTS:** there was a statistically significant relationship between age and glycated hemoglobin levels and NAFLD and an inverse correlation between serum leptin and resistin with the degree of steatosis and between resistin and fibrosis in the histopathological analysis. There was no correlation between the adipokines expression in the visceral and subcutaneous tissue and the histopathologic findings. **CONCLUSION:** morbidly obese serum levels of leptin was diminished in the presence of high levels of steatosis and serum levels of resistin were diminished in the presence of both simple steatosis and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). The age was related to NASH. The levels of glycated hemoglobin became higher in the presence of NAFLD, indirectly reflecting insulin resistance.

## INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença de abrangência mundial, sendo implicada comprovadamente em inúmeras condições clínicas, mais frequentemente na hipertensão arterial sistêmica, no diabetes mellitus tipo 2, na dislipidemia, na doença coronariana e no acidente vascular cerebral, atingindo proporções epidêmicas tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento (1). A doença hepática gordurosa não-alcóolica (DHGNA) também está associada à obesidade, com presença estimada em cerca de 80% dos obesos e até 95% dos obesos mórbidos (2,3). Em nosso meio, quando avaliada uma população de obesos mórbidos candidatos a cirurgia bariátrica, foi observada alta prevalência de esteatose simples (90,4%) e esteatohepatite não-alcóolica (EHNA) (70,4%) (4,5). Seu espectro é constituído por esteatose hepática simples, EHNA, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) (6).

O tratamento da obesidade tem objetivos mais amplos que a simples redução do peso, mas também a redução de riscos associados e melhora nos parâmetros de saúde (7). Apesar da ampla gama de tratamentos disponíveis atualmente para obesidade (medicamentos, dietas altamente restritivas e diferentes técnicas cirúrgicas), sua terapêutica ainda é desafiadora e a mudança no estilo de vida e as técnicas cognitivo-comportamentais continuam sendo fundamentais (8). A cirurgia bariátrica surge como alternativa em pacientes com obesidade severa com índice de massa corporal (IMC) igual ou superior a  $40,0 \text{ kg/m}^2$  ou com IMC igual ou superior a  $35,0 \text{ kg/m}^2$  associado a fatores de risco, quando não responderam a outros métodos de tratamento (8). Pela frequência do comprometimento hepático em pacientes obesos, a biópsia hepática tem sido proposta de forma assistencial nestes pacientes por ocasião da realização da cirurgia bariátrica, embora esse tema ainda seja controverso (9,10).

O tecido adiposo, além de sua função básica e reconhecida de armazenamento de triglicerídeos, vem sendo reconhecido também como um órgão endócrino ativo atuando de forma determinante na homeostase energética do indivíduo, tanto na organização e fracionamento de lipídeos, mas também modulando a função de outros órgãos, centrais ou periféricos, pela síntese e secreção de moléculas próprias, chamadas adipocinas (11).

Indivíduos obesos ou portadores de síndrome metabólica podem apresentar distúrbios na produção de adipocinas, acarretando em mudanças na sensibilidade à insulina e outras alterações bioquímicas e metabólicas, aumentando a suscetibilidade a desordens metabólicas como resistência insulínica, diabetes do tipo II, hipertensão arterial sistêmica e doenças cardiovasculares entre outras (11). A DHGNA é considerada a tradução da síndrome metabólica no fígado, com um estado de inflamação crônica e produção de mediadores pró-inflamatórios como fator de necrose tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ), interleucina (IL) 1 alfa/beta, IL-6, dentre outros (12). No entanto, a relação entre a produção de adipocinas pelo tecido adiposo e o surgimento da DHGNA, bem como a sua evolução para EHNA, ainda são motivos de controvérsia (13–16).

O presente estudo pretende investigar os níveis de adipocinas em pacientes obesos mórbidos submetidos à cirurgia bariátrica com diferentes graus de DHGNA, avaliando o potencial destes parâmetros como marcadores de sua evolução.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente estudo tem delineamento observacional descritivo retrospectivo onde foram analisados os níveis de adipocinas (adiponectina, leptina e resistina) em pacientes com obesidade mórbida submetidos a cirurgia bariátrica, em hospital de referência no sul do

Brasil, e comparados com os achados histopatológicos em espécimes hepáticos obtidos no transoperatório.

Os indivíduos participantes do presente estudo foram recrutados no Ambulatório de Atenção ao Obeso Classe III do Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) em Porto Alegre, hospital público de nível terciário, submetidos a cirurgia bariátrica entre os anos de 2011 e 2012. Os critérios de inclusão foram: pacientes com IMC maior ou igual a 40 kg/m<sup>2</sup> ou IMC maior que 35 kg/m<sup>2</sup> com comorbidades associadas. Os critérios de exclusão para a realização de cirurgia bariátrica foram: cirrose descompensada, além de distúrbios de coagulação e doenças gástricas. Além disso, também foram excluídos os pacientes quando não realizavam biópsia hepática no transoperatório. Para participação no estudo as amostras de tecido adiposo visceral e subcutâneo, além de sangue total, foram coletadas durante a cirurgia bariátrica.

No transoperatório, foram excisadas, pelo cirurgião, amostras frescas do tecido adiposo subcutâneo e do tecido adiposo omental, sendo imediatamente imersas no *Allprotect Tissue Reagent*® (Qiagen, Courtabouef, France) e transportadas ao laboratório, sendo mantidas a -20°C, até que a extração do RNA fosse realizada. A extração foi realizada utilizando o *RNeasy Lipid Tissue Mini Kit* (Qiagen, Courtabouef, France), seguindo as orientações do fabricante. A integridade e qualidade do RNA foram medidas e confirmadas, utilizando a espectrofotometria, sendo o RNA armazenado a -80°C.

O cDNA foi obtido com 8µL do RNA extraído, utilizando o *Superscript<sup>TM</sup> First-Strand Synthesis System for RT-PCR*® (Invitrogen; California; USA). Após, 25ng do cDNA foram utilizados para quantificar a expressão dos genes que codificam a leptina, a resistina e a adiponectina através da reação em cadeia da polimerase em tempo real associada à detecção com sondas de hidrólise utilizando *Taqman Gene Expression Assays* e analisados no

equipamento *Step one Plus<sup>TM</sup> Real-Time PCR system* (Life Technologies®, California, USA). Como controles endógenos foram validados previamente os genes *B2M* e *FBXL10*.

As três adipocinas foram quantificadas nas amostras de soro coletadas no momento da cirurgia utilizando-se a técnica de *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) empregando os reagentes contidos nos *Human Leptin, Resistin e Adiponectin Elisa Kit* (EMD Millipore Corporation, Missouri, USA).

Foram coletadas variáveis relativas a idade (em anos), gênero, massa corporal (em quilos), altura (em metros) e a medida do panículo adiposo (em cm), feita durante a cirurgia. Além disso, também foram coletados dados laboratoriais como colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicerídeos, glicemia e hemoglobina glicada (HbA1c).

As biópsias hepáticas já preparadas e coradas foram analisadas por dois patologistas independentes com experiência na área de patologia hepática, ambos cegos para o diagnóstico do paciente, abrangendo as classificações histopatológicas pertinentes para avaliação da DHGNA. As análises histopatológicas utilizaram o *NAFLD activity score* (NAS), validado por Kleiner *et al.* na avaliação da DHGNA em paciente obesos mórbidos (17). Quando havia discordância entre os dois patologistas, era realizada uma revisão com reclassificação dos achados histopatológicos, quando necessário.

As características histológicas foram agrupadas em cinco categorias, conforme Kleiner *et al.* (17). A esteatose foi classificada conforme a extensão de comprometimento do parênquima hepático (inferior a 5%; 5 a 33%; 33 a 66%; igual ou superior a 66%), localização predominante (Zona 3, Zona 1, Azonal e Panacinar) e avaliação da esteatose microvesicular (presente; ausente). A fibrose foi classificada conforme seu estágio (0 a 4). Com relação a atividade inflamatória, foi avaliada conforme a presença de inflamação lobular e portal (17).

## **ANALISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram armazenados em planilha do programa Windows Microsoft Excel e transcritos para o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20.0. A distribuição dos dados foi avaliada quanto à normalidade por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Foi utilizada a estatística descritiva, com determinação das médias e desvio-padrão para as variáveis quantitativas. Variáveis que apresentaram distribuição assimétrica (triglicerídeos, níveis de adiponectina e resistina) foram transformadas em logaritmo natural para a obtenção de uma distribuição normal. Frequências simples e relativa foram calculadas para as variáveis categóricas.

Para comparar os grupos, foram utilizados a análise de variâncias (ANOVA) para variáveis com distribuição normal. Para os níveis de triglicerídeos, adiponectina e resistina a ANOVA foi realizada com as variáveis transformadas em logaritmo. Os níveis de mRNA das três adipocinas nos tecidos adiposo visceral e subcutâneo não apresentaram distribuição normal, nem mesmo após transformação, portanto foram comparados através do teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância utilizado foi de 5%.

## **ASPECTOS ÉTICOS**

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), como Instituição proponente, e também ao CEP do HNSC, como Instituição copartícipe, e aprovado sob parecer 885.039, deferido em 19/11/2014 (Anexo 1).

Os dados foram obtidos de banco de dados preexistente, sendo que o projeto foi aprovado nos Comitês de ética e pesquisa da UFCSPA (nº 11-772) e do HNSC sob o parecer número 1347/11 (11-705).

Foi solicitada a dispensa de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), já que se trata de estudo retrospectivo, que não envolveu nova coleta de material biológico nem novo contato com os pacientes. No TCLE do estudo prévio os participantes concordaram com o armazenamento do material biológico coletado, podendo ser utilizado para posteriores estudos por 5 anos, mediante aprovação do novo projeto pelos Comitês de Ética envolvidos.

## RESULTADOS

Dos 60 pacientes inicialmente incluídos 25 foram excluídos por não terem realizado biópsia hepática no transoperatório ou por apresentarem espécimes de tecido hepático de má qualidade, inadequados para avaliação histopatológica. Dentre os 35 pacientes restantes, 25 pacientes tiveram aferidos seus níveis séricos de adipocinas, constituindo a amostra do presente estudo.

A amostra foi constituída exclusivamente de mulheres, com média de idade de 43 anos e IMC médio de 50 kg/m<sup>2</sup>. Na Tabela 1, contendo dados antropométricos e laboratoriais, também podemos observar os níveis médios de adipocinas no soro (ADIPOQ, LEP e RETN). Dezoito pacientes (72%) apresentaram diagnóstico de síndrome metabólica.

Na avaliação da histopatologia, houve predomínio da DHGNA, sendo que 21 (84%) pacientes apresentavam acúmulo intra-hepático de gordura. Dentro desse grupo, 12 (48%) pacientes apresentaram EHNA e 9 (36%) pacientes apresentaram esteatose simples. Apenas 4 (16%) pacientes não apresentavam quaisquer alterações histológicas nos espécimes coletados, ou apenas parênquima hepático com padrão reacional (Tabela 2).

Na análise do estágio de fibrose, 22 (88%) pacientes apresentavam estágios mais leves (0, 1 e 2) e apenas 3 (12%) pacientes estágios mais avançados (3 e 4) de fibrose. Com relação

ao acúmulo hepático de gordura, houve um predomínio dos graus mais leves de esteatose (até 33%), sendo que apenas 4 (16%) pacientes apresentaram acúmulo mais acentuado (> 33%).

Os pacientes portadores de EHNA eram significativamente mais velhos que os demais grupos ( $p=0,007$ ) (Tabela 2), com média de idade de 49,5 anos (DP=6,4). Os níveis de hemoglobina glicada (HbA1C) apresentaram-se mais elevados nos pacientes com EHNA (Tabela 2) ( $p=0,045$ ). A glicemia de jejum apresentou-se mais elevada nos pacientes com EHNA, com significância limítrofe ( $p=0,054$ ). As demais variáveis não demonstraram diferenças com relação a presença ou não de EHNA (Tabela 2).

Na dosagem de adiponectina plasmática (Tabela 1) foi observada uma concentração plasmática média de 14,9 ug/mL (DP=6,9 ug/mL). Quando comparados os níveis séricos de ADIPOQ com o espectro da DHGNA (Tabela 3), não houve uma diferença significativa entre os grupos ( $p=0,505$ ). Da mesma forma, quando comparada com os diferentes graus de esteatose simples e fibrose (Figura 1) não diferença entre os grupos ( $p=0,413$  e  $p=0,207$  respectivamente).

O nível sérico médio de leptina 37,9 ng/mL (DP=12,7 ng/mL) (Tabela 1). Quando comparados os níveis de LEP com relação à presença de DHGNA (Tabela 3), não foi observada diferença significativa ( $p = 0,114$ ). Quando comparados os níveis séricos da LEP com os diferentes graus de esteatose (Figura 2), foram observados níveis decrescentes dessa adipocina quanto maior o grau de esteatose, atingindo significância estatística ( $p=0,009$ ). Quanto aos diferentes estágios de fibrose (Figura 2), não foi encontrada diferença significativa com relação aos níveis de leptina ( $p=0,175$ ).

A resistina apresentou uma concentração média de 0,63 ng/mL (DP=0,3 ng/mL) (Tabela 1). Não houve diferença quando comparado os níveis séricos de RETN com o espectro da DHGNA (Tabela 3) ( $p=0,113$ ). Com relação a RETN e os diferentes graus de esteatose hepática (Figura 3), foi verificada uma redução progressiva de seus níveis quanto

maior o grau de esteatose hepática, apresentando diferença significativa ( $p= 0,047$ ). Na análise dos diferentes graus de fibrose (Figura 3), houve redução estatisticamente significativa dos níveis de RETN nos graus mais avançados de fibrose ( $p=0,014$ ).

Quando analisada a expressão das adipocinas (ADIPOQ, RETN e LEP) nos tecidos visceral e subcutâneo (Tabela 4), não houve diferença entre os valores das adipocinas e as diferentes manifestações da DHGNA (esteatose simples ou EHNA).

## DISCUSSÃO

A doença hepática gordurosa não-alcóolica é uma manifestação hepática da síndrome metabólica e está intimamente relacionada à resistência insulínica. As adipocinas são citocinas produzidas pelo tecido adiposo, com papel fundamental na homeostase energética do organismo. O desequilíbrio em sua produção leva ao acúmulo ectópico de gordura, sendo o parênquima hepático um dos sítios de depósito (11).

No presente trabalho, em uma amostra de pacientes com obesidade mórbida submetidos a cirurgia bariátrica composta exclusivamente de mulheres, foi estudada a relação entre os níveis de três adipocinas (leptina, adiponectina e resistina) nos tecidos adiposo subcutâneo e visceral e no soro com dados histopatológicos hepáticos, laboratoriais e antropométricos. Dentre os resultados se destacam a idade avançada nos portadores de EHNA, a hemoglobina glicada com uma relação direta com a presença de EHNA e a relação inversa dos níveis séricos de resistina e leptina com os graus de esteatose e da resistina com os estágios de fibrose.

A idade avançada em portadores de EHNA, verificada no presente estudo, também foi observada em grupo de mulheres portadoras de EHNA quando comparado ao grupo com esteatose simples no estudo de Hui *et al.*(18). Outros trabalhos não verificaram essa relação

(19–22). Esse fato pode ser atribuído ao maior tempo de evolução da DHGNA nesse grupo de pacientes.

O aumento do conteúdo hepático de gordura está fortemente associado à síndrome metabólica e à resistência insulínica (23–25). No presente estudo não foi realizada dosagem de insulina para o cálculo de índices de resistência insulínica, portanto não foi possível aferir a resistência insulínica, mas foram realizadas dosagens de glicemia de jejum e hemoglobina glicada, indicadores indiretos da resistência insulínica. Assim, foi possível verificar níveis elevados de glicemia de jejum na EHNA, com significância limítrofe, e níveis de hemoglobina glicada aumentados significativamente nos pacientes com esteatose simples e EHNA.

As adipocinas vêm sendo alvo de diversos estudos acerca de sua relação com os achados histopatológicos, variáveis antropométricas e laboratoriais na doença hepática gordurosa não-alcóolica, buscando marcadores não-invasivos de sua atividade e progressão. Dentre essas, a ADIPOQ vêm se mostrando como uma citocina protetora contra a progressão da DHGNA, provavelmente devido a suas propriedades antiinflamatórias e sensibilizadoras de insulina (26), apresentando níveis séricos reduzidos na DHGNA (19–21,27). A associação da ADIPOQ com os achados histopatológicos também foi analisada, buscando um marcador não-invasivo para DHGNA. Bugianesi *et al.* (27), verificaram a associação inversa entre os níveis de ADIPOQ com o grau de esteatose em espécimes hepáticos, enquanto outros observaram a relação dessa citocina, não somente com o grau de esteatose, mas também com a atividade de doença e a presença de fibrose hepática (20,21,28).

Muito embora, no presente estudo, não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa nos níveis da ADIPOQ quando comparada com achados histopatológicos, os níveis séricos dessa citocina mostraram tendência à diminuição, tanto em graus mais acentuados de esteatose, como em estágios mais avançados de EHNA. O presente

estudo avaliou uma amostra menor que outros (21,29), mas semelhante ao de Pagano *et al.* (19), podendo ser esse um motivo pelo qual não se encontrou uma diferença estatisticamente significativa.

A leptina está diretamente relacionada à massa de gordura corporal, apresentando-se aumentada no sexo feminino e também na DHGNA (30). Em modelos animais, seu papel como promotor de fibrose hepática, muito provavelmente através do estímulo às células estreladas hepáticas, já foi demonstrado (31,32). Já em humanos, um estudo realizado por Chitturi *et al.* (33) demonstrou a correlação positiva da LEP com os graus mais avançados de esteatose, muito embora não tenha verificado relação com fibrose, a qual foi descrita por Tsochatzis *et al.* (34). O presente estudo, ao contrário dos trabalhos anteriores que mostraram uma correlação direta dos níveis séricos de LEP com os graus de esteatose e estágios de fibrose (33,34), encontrou uma correlação inversa com os graus de esteatose, questionando quanto à função distinta dessa citocina nesse grupo de pacientes do sexo feminino, com obesidade mórbida.

Com relação à associação da resistina, citocina relacionada diretamente à resistência insulínica e à obesidade (35), grande parte dos estudos vem demonstrando uma correlação dos níveis elevados séricos de RETN com graus elevados de esteatose (36) e com EHNA (37–39), ao passo que um estudo demonstrou uma correlação negativa dos níveis de RETN com os achados histológicos (21) e outro, avaliando conteúdo hepático de gordura através de espectroscopia por ressonância magnética, também encontrou relação negativa com o conteúdo intra-hepático de gordura (25). No presente estudo, verificou-se uma relação negativa dos níveis séricos de RETN, tanto com graus de esteatose hepática como com a progressão da fibrose. Esses resultados vão ao encontro do que foi observado no trabalho de Argentou *et al.* (21) que demonstraram resultados semelhantes, levantando a hipótese de um

funcionamento diferenciado dessa citocina em obesos mórbidos, tendo em vista que ambos os estudos avaliam essa população específica.

Alguns estudos (28,40,41) têm avaliado também os níveis de adipocinas no tecido adiposo subcutâneo e visceral, buscando uma compreensão maior da atuação dessas citocinas. Em um dos estudos (28), foi demonstrado que a expressão da ADIPOQ no tecido visceral está reduzida em pacientes obesos com resistência insulínica. Outro comparou a expressão das adipocinas ADIPOQ e LEP no tecido adiposo subcutâneo e visceral em obesos, encontrando uma concentração maior dessas no tecido subcutâneo (40). Da mesma forma, a expressão de receptores de adiponectina (*Adiponectin receptor 2* - AdipoR2) no tecido adiposo se mostrou reduzida em pacientes obesos, com aumento de seus níveis após introdução de atividade física e perda de peso (41). Na presente casuística, não foi encontrada relação entre a expressão das adipocinas no tecido adiposo visceral e subcutâneo com esteatose hepática simples ou EHNA. Esse resultado talvez possa ser explicado devido ao tamanho da amostra. Devido a controvérsia existente, novos estudos devem ser propostos, permitindo um entendimento mais amplo da atuação e do metabolismo dessas substâncias diretamente no tecido adiposo.

## CONCLUSÃO

O conhecimento sobre a doença hepática gordurosa não-alcóolica vem evoluindo, simultaneamente, em diversas áreas, promovendo o conhecimento desta situação clínica como uma manifestação hepática da síndrome metabólica. Além disso, é importante compreender que o tecido adiposo, além de sua função básica de armazenamento de triglicerídeos, vem sendo reconhecido também como um órgão endócrino ativo atuando de forma determinante na homeostase energética do organismo, tanto na organização e

fracionamento de lipídeos, mas também modulando a função de outros órgãos, centrais ou periféricos, pela síntese e secreção de moléculas próprias.

No presente estudo, em uma população de obesos mórbidos destacam-se a LEP e a RETN tendo sido demonstrada uma relação inversa de ambas com a presença de esteatose hepática e da RETN também com a EHNA. Além disso, foi verificada a relação direta da idade e dos níveis da HbA1c com a progressão da DHGNA, sendo esse último um marcador indireto da resistência insulínica, levantando a hipótese de sua utilização como um marcador de gravidade da DHGNA.

Embora não tenha sido observada a relação entre a expressão dessas adipocinas no tecido subcutâneo e visceral e os achados histopatológicos, essa análise deverá ser revista em novos estudos.

**REFERÊNCIAS:**

1. Lau DCW, Douketis JD, Morrison KM, Hramiak IM, Sharma AM, Ur E. 2006 Canadian clinical practice guidelines on the management and prevention of obesity in adults and children [summary]. *Can Med Assoc J.* 2007;176(8):S1–13.
2. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(3):274–85.
3. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a World Health Organization Consultation. Geneva: World Health Organization, 2000. p256. WHO Obesity Technical Report Series, n.284
4. Losekann A, Weston A, de Mattos A, Tovo C, de Carli L, Espindola M, et al. Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH): Risk Factors in Morbidly Obese Patients. *Int J Mol Sci.* 2015;16(10):25552–9.
5. Losekann A, Weston AC, Carli LA, Espindola MB, Pioner SR, Coral GP. Nonalcoholic Fatty liver disease in severe obese patients, subjected to bariatric surgery. *Arq Gastroenterol.* 2013;50(4):285–9.
6. Rinella ME. Nonalcoholic Fatty Liver Disease A Systematic Review. *JAMA.* 2015;169(2):170.
7. Tsigos C, Hainer V, Basdevant A, Finer N, Fried M, Mathus-Vliegen E, et al. Management of obesity in adults: European clinical practice guidelines. *Obes Facts.* 2008;1(2):106–16.
8. ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010. 3º ed. 2009.

9. Shalhub S, Parsee A, Gallagher SF, Haines KL, Willkomm C, Brantley SG, et al. The Importance of Routine Liver Biopsy in Diagnosing Nonalcoholic Steatohepatitis in Bariatric Patients. *Obes Surg.* 2004;14(1):54–9.
10. Mahawar KK, Parmar C, Graham Y, Abouleid A, Carr WRJ, Jennings N, et al. Routine Liver Biopsy During Bariatric Surgery: an Analysis of Evidence Base. *Obes Surg.* 2016;26(1):177–81.
11. Deng Y, Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;(1212):1–25.
12. Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;27(5):412–21.
13. Abenavoli L, Peta V. Role of adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Recent Clin Trials.* 2014;9(3):134–40.
14. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol.* 2011;17(23):2801–11.
15. Stojavljević S, Gomerčić Palčić M, Virović Jukić L, Smirčić Duvnjak L, Duvnjak M. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(48):18070–91.
16. Tsochatzis EA, Papatheodoridis G V., Archimandritis AJ. Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: From pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. *Mediators Inflamm.* 2009;2009:831670.
17. 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.
18. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin

- resistance in NASH: TNF-?? or adiponectin? *Hepatology*. 2004;40(1):46–54.
19. Pagano C, Soardo G, Esposito W, Fallo F, Basan L, Donnini D, et al. Plasma adiponectin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol*. 2005;152(1):113–8.
  20. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Scala L, Zenari L, et al. Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;64(6):679–83.
  21. Argentou M, Tiniakos DG, Karanikolas M, Melachrinou M, Makri MG, Kittas C, et al. Adipokine serum levels are related to liver histology in severely obese patients undergoing bariatric surgery. *Obes Surg*. 2009;19(9):1313–23.
  22. Le D, Marks D, Lyle E, Corless CL, Diggs BS, Jobe BA, et al. Serum leptin levels, hepatic leptin receptor transcription, and clinical predictors of non-alcoholic steatohepatitis in obese bariatric surgery patients. *Surg Endosc Other Interv Tech*. 2007;21(9):1593–9.
  23. Petersen KF, Dufour S, Feng J, Befroy D, Dziura J, Dalla Man C, et al. Increased prevalence of insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in Asian-Indian men. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(48):18273–7.
  24. Vega GL, Chandalia M, Szczepaniak LS, Grundy SM. Metabolic correlates of nonalcoholic fatty liver in women and men. *Hepatology*. 2007;46(3):716–22.
  25. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, Ntali G, Esposito A, Burska A, et al. Serum resistin and hepatic fat content in nondiabetic individuals. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(12):5122–5.
  26. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet*. 2003;361(9353):226–8.

27. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de Iasio R, et al. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3498–504.
28. Baranova A, Gowder SJ, Schlauch K, Elariny H, Collantes R, Afendy A, et al. Gene expression of leptin, resistin, and adiponectin in the white adipose tissue of obese patients with non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Obes Surg.* 2006;16(9):1118–25.
29. Targher G, Bertolini L, Scala L, Poli F, Zenari L, Falezza G. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely associated with nonalcoholic hepatic steatosis in obese individuals. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2004;61(6):700–3.
30. Tsochatzis E, Papatheodoridis G V, Archimandritis AJ. The evolving role of leptin and adiponectin in chronic liver diseases. *Am J Gastroenterol.* 2006;101(11):2629–40.
31. Ikejima K, Takei Y, Honda H, Hirose M, Yoshikawa M, Zhang Y-J, et al. Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology.* 2002;122(5):1399–410.
32. Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, Hirose M, Kitamura T, Takei Y, et al. Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver induced by hepatotoxic chemicals. *Hepatology.* 2001;34(2):288–97.
33. Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Liddle C, et al. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: A manifestation of lipotoxicity? *Hepatology.* 2002;36(2):403–9.
34. Tsochatzis E, Papatheodoridis G V, Hadziyannis E, Georgiou A, Kafiri G, Tiniakos DG, et al. Serum adipokine levels in chronic liver diseases: association of resistin levels with fibrosis severity. *Scand J Gastroenterol.* 2008;43(9):1128–36.

35. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307–12.
36. Aller R, de Luis D, Fernandez L, Calle F, Velayos B, Olcoz J, et al. Influence of Insulin Resistance and Adipokines in the Grade of Steatosis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*. 2008;53(4):1088–92.
37. Pagano C, Soardo G, Pilon C, Milocco C, Basan L, Milan G, et al. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(3):1081–6.
38. Senates E, Çolak Y, Yesil A, Coskunpinar S, Sahin O, Kahraman OT, et al. Circulating resistin is elevated in patients with non-alcoholic fatty liver disease and its associated with steatosis, portal inflammation, insulin resistance and noalcoholic steatohepatitis scores. *Minerva Med*. 2012;53(9):1689–99.
39. Cengiz C, Ardicoglu Y, Bulut S, Boyacioglu S. Serum retinol-binding protein 4 in patients with nonalcoholic fatty liver disease: does it have a significant impact on pathogenesis? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010;22(7):813–9.
40. Samaras K, Botelho NK, Chisholm DJ, Lord R V. Subcutaneous and visceral adipose tissue gene expression of serum adipokines that predict type 2 diabetes. *Obesity (Silver Spring)*. Nature Publishing Group; 2010;18(5):884–9.
41. Blüher M, Fasshauer M, Kralisch S, Schön MR, Krohn K, Paschke R. Regulation of adiponectin receptor R1 and R2 gene expression in adipocytes of C57BL/6 mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;329(3):1127–32.

**Tabela 1 – Dados antropométricos e laboratoriais dos 25 pacientes incluídos no presente estudo**

	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>Idade (anos)</b>	22,87	56,99	43,01	10,49
<b>Índice de Massa Corporal (IMC)</b>	35,29	69,14	50,15	7,79
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	121	316	209	40,61
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	59	333	159,16	74,07
<b>LDL (mg/dL)</b>	59	231	129	36,1
<b>HDL (mg/dL)</b>	32	72	49,4	9,32
<b>Glicemia Jejum (mg/dL)</b>	79	300	125,12	58,12
<b>HbA1c (%)</b>	4,7	12,9	6,7	2,17
<b>Adipoentina (ng/mL)</b>	5,86	30,82	14,82	6,87
<b>Leptina (ng/mL)</b>	11,31	64,68	37,9	12,69
<b>Resistina (ng/dL)</b>	0,28	1,68	0,63	0,3

LDL, Low Density Lipoprotein; HDL, High density lipoprotein; HbA1c, Hemoglobina glicada;

**Tabela 2. Correlação entre dados antropométricos e bioquímicos com achados histológicos hepáticos.**

	Total	Sem DHGNA	Esteatose simples	EHNA	<i>p</i>
<b>n (%)</b>	25 (100)	4 (16)	9 (36)	12 (48)	
<b>Idade (anos)</b>	43,10 ± 10,82	38,5 ± 10,82	36,44 ± 10,16	49,45 ± 6,71	0,007 <sup>a</sup>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	50,15 ± 7,79	49,00 ± 6,73	54,16 ± 9,00	47,53 ± 6,33	0,148 <sup>a</sup>
<b>Espessura tecido adiposo subcutâneo (cm)</b>	7,06 ± 1,86	7,75 ± 2,21	7,72 ± 1,71	6,33 ± 1,73	0,177 <sup>a</sup>
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	209,80 ± 40,61	221,75 ± 86,76	216,66 ± 31,66	200,66 ± 25,19	0,566 <sup>a</sup>
<b>LDL (mg/dL)</b>	144,50 ± 76,44	144,50 ± 76,44	130,86 ± 24,69	122,50 ± 25,89	0,583 <sup>a</sup>
<b>HDL (mg/dL)</b>	49,4 ± 9,32	53,50 ± 7,18	50,11 ± 11,85	47,50 ± 7,93	0,536 <sup>a</sup>
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	157,16 ± 74,07	118,50 ± 52,75	178,88 ± 72,98	153,75 ± 23,08	0,398 <sup>b</sup>
<b>Glicemia Jejum (mg/dL)</b>	125,12 ± 58,12	85,00 ± 6,33	106,00 ± 20,70	152,83 ± 72,98	0,054 <sup>a</sup>
<b>HbA1C (%)</b>	6,74 ± 2,17	5,25 ± 0,26	5,97 ± 0,87	7,81 ± 2,68	0,045 <sup>a</sup>

Resultados expressos em média ± desvio Padrão

IMC índice de massa corporal; LDL Low Density Lipoprotein; HDL High density lipoprotein; HbA1c Hemoglobina glicada; DHGNA Doença hepática gordurosa não-alcóolica; EHNA Esteatohepatite não-alcóolica

<sup>a</sup> Análise de variâncias (ANOVA)

<sup>b</sup> ANOVA com variável transformada em ln.

**Tabela 3. Correlação dos níveis séricos de adipocinas com os achados histopatológicos hepáticos.**

	n	Total	Sem DHGNA	Esteatose simples	EHNA	p
<b>Adiponectina (ng/mL)</b>	24	14,82 ± 6,87	19,47 ± 10,50	13,77±7,24	13,96 ± 5,06	0,505 <sup>b</sup>
<b>Leptina (ng/mL)</b>	25	37,90 ± 12,69	44,91 ± 15,07	41,96 ± 10,07	32,57 ± 12,35	0,114 <sup>a</sup>
<b>Resistina (ng/mL)</b>	25	0,63 ± 0,30	0,91 ± 0,51	0,60 ± 0,16	0,55 ± 0,27	0,113 <sup>b</sup>

Resultados expressos em média ± desvio Padrão

DHGNA Doença hepática gordurosa não-alcóolica; EHNA Esteatohepatite não-alcóolica

<sup>a</sup>Utilizado o teste de análise de variâncias (ANOVA)

<sup>b</sup>ANOVA com variável transformada em ln

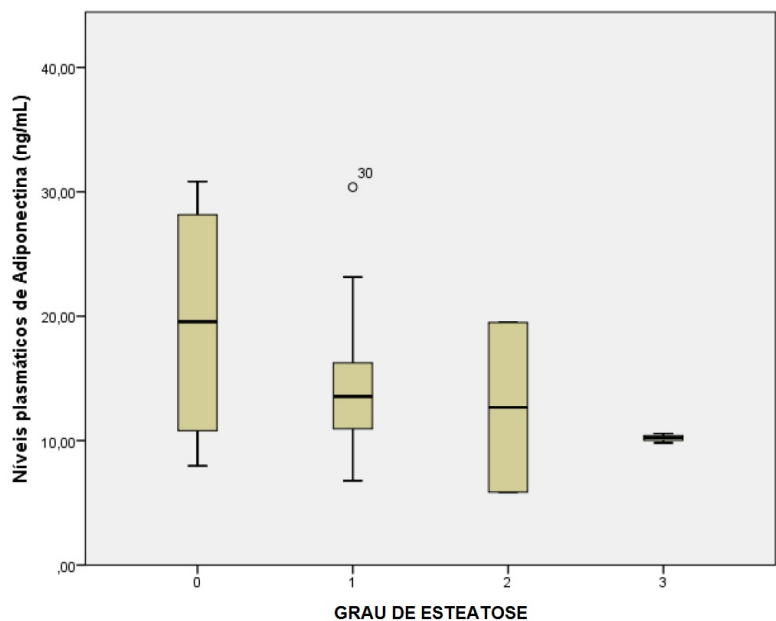
**Tabela 4. Correlação dos níveis de RNA mensageiro das adipocinas no tecido subcutâneo e visceral com os achados histopatológicos hepáticos.**

	n	Total	Sem DHGNA	Esteatose simples	EHNA	p
<b>Adiponectina Subcutâneo</b>	24	7,43 ± 9,04	3,06 ± 2,13	13,48 ± 13,75	4,86 ± 2,93	0,057
<b>Adiponectina Visceral</b>	24	4,57 ± 6,39	1,77 ± 0,83	8,00 ± 10,30	3,22 ± 2,09	0,167
<b>Leptina Subcutâneo</b>	24	2,21 ± 5,21	0,75 ± 0,88	4,40 ± 8,78	1,24 ± 1,44	0,357
<b>Leptina Visceral</b>	24	0,34 ± 0,30	0,38 ± 0,36	0,27 ± 0,34	0,38 ± 0,27	0,728
<b>Resistina Subcutâneo</b>	19	0,0142 ± 0,0386	0,0059 ± 0,0081	0,0088 ± 0,0145	0,0187 ± 0,0502	0,851
<b>Resistina Visceral</b>	19	0,0067 ± 0,0205	0,0014 ± 0,0019	0,0023 ± 0,0015	0,0101 ± 0,0270	0,725

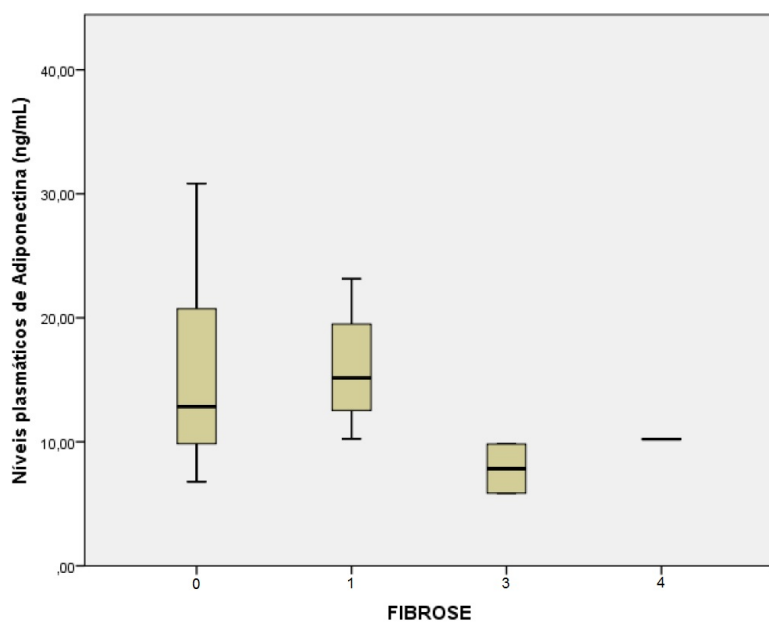
Resultados expressos como média ± desvio padrão

DHGNA Doença hepática gordurosa não-alcóolica; EHNA Esteatohepatite não-alcóolica

<sup>a</sup> Teste de Kruskal-Wallis entre os grupos sem DHGNA, com esteatose simples e com EHNA



$p=0,428^a$



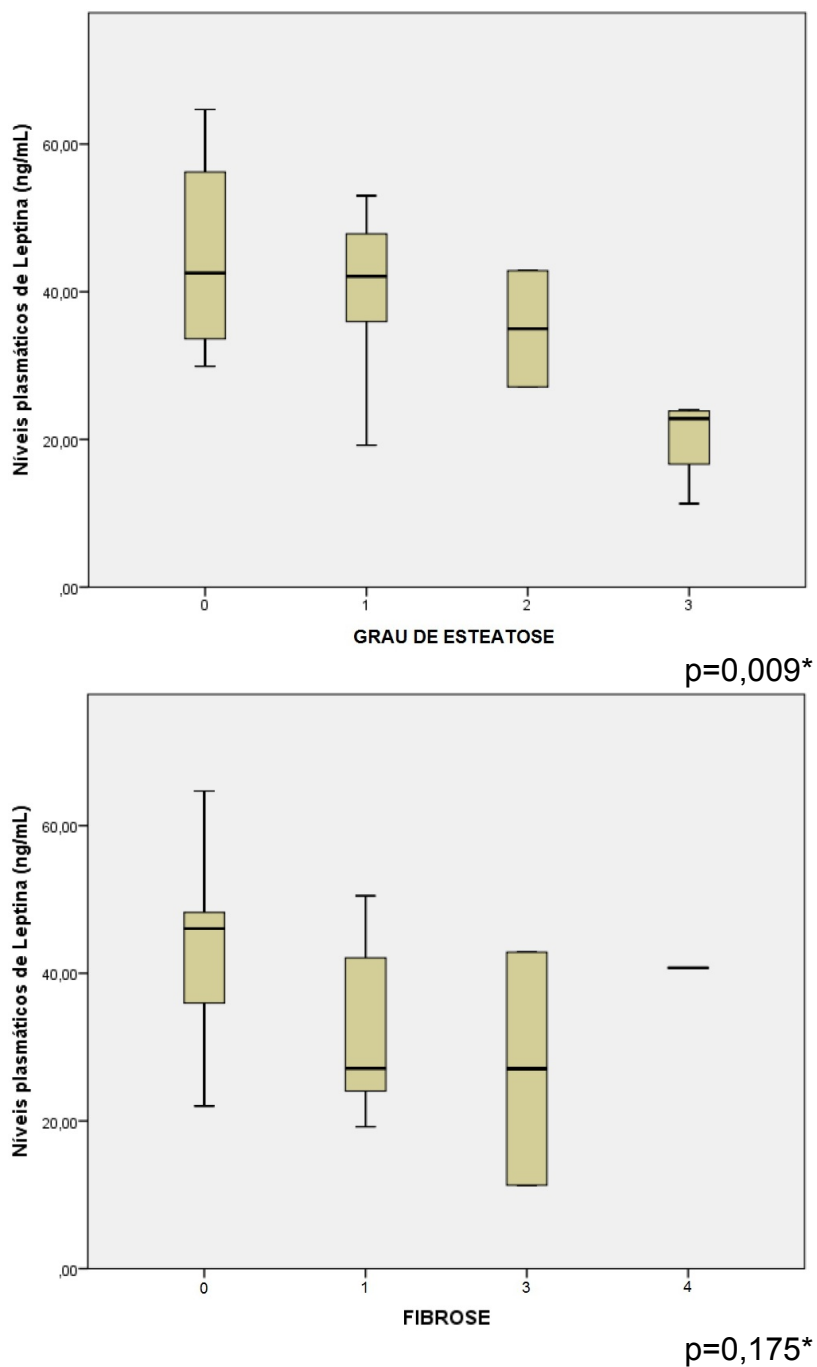
$p=0,207^b$

**Figura 1 – Níveis plasmáticos de adiponectina de acordo com as características histopatológicas observadas nas amostras hepáticas**

Dados apresentados como medianas, boxes indicam intervalos entre o primeiro e o terceiro quartil e barras indicam valores mínimos e máximos.

<sup>a</sup> Valor de P referente ao Teste de Kruskal-Wallis realizado com os valores de adiponectina entre os grupos.

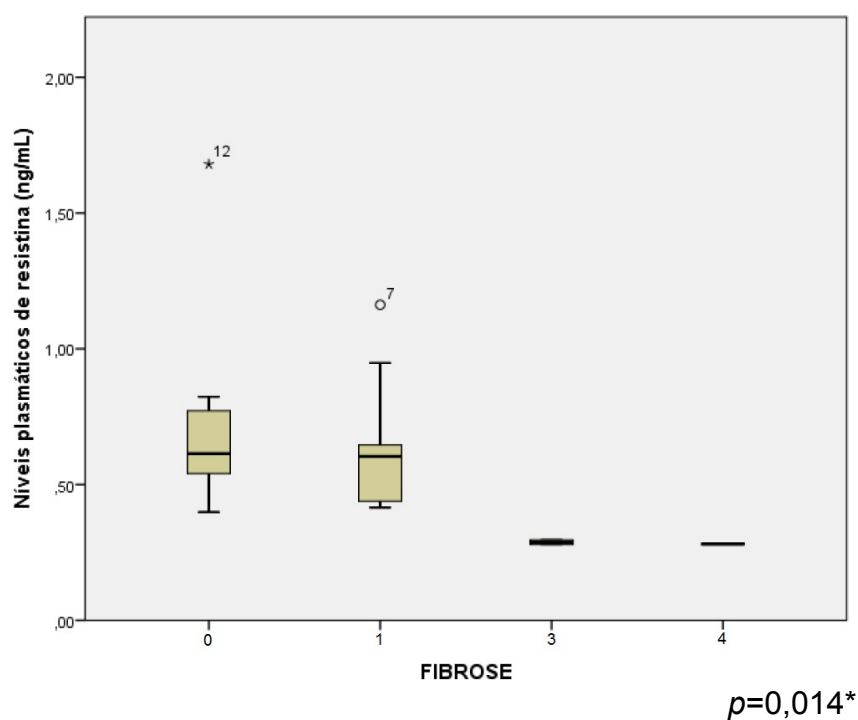
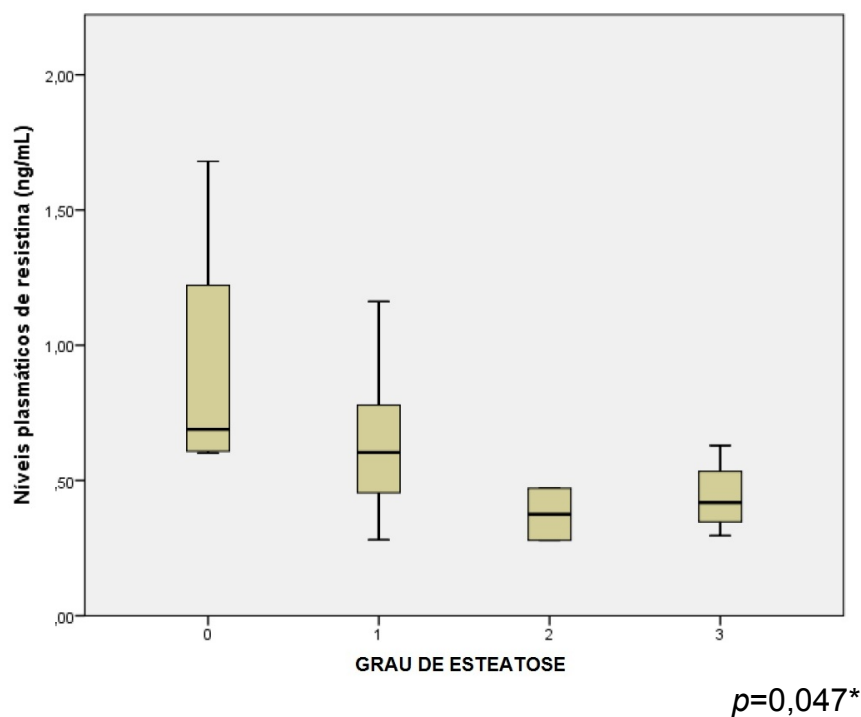
<sup>b</sup> Valor de P referente à ANOVA realizada com os valores de adiponectina transformados em ln entre os grupos.



**Figura 2 – Níveis plasmáticos de leptina de acordo com as características histopatológicas observadas nas amostras hepáticas.**

Dados apresentados como medianas, boxes indicam intervalos entre o primeiro e o terceiro quartil e barras indicam valores mínimos e máximos.

\*Valores de P referentes à ANOVA entre os grupos.



**Figura 3 – Níveis plasmáticos de resistina de acordo com as características histopatológicas observadas nas amostras hepáticas**

Dados apresentados como medianas, boxes indicam intervalos entre o primeiro e o terceiro quartil e barras indicam valores mínimos e máximos.

\*Valores de P referentes à ANOVA realizada com os valores de resistina transformados em ln entre os grupos.

## 7. CONCLUSÃO:

- Não se verificou relação dos níveis séricos de adiponectina com achados histopatológicos;
- A leptina sérica se mostrou diminuída, quanto maior o grau de esteatose hepática;
- A resistina sérica se mostrou diminuída quanto maior o grau de esteatose e quanto mais avançado o estágio de fibrose hepática;
- Os pacientes com EHNA apresentaram idade mais avançada.
- A hemoglobina glicada apresentou níveis elevados em pacientes portadores de DHGNA e EHNA.
- Não houve relação entre os níveis de RNA mensageiro das adipocinas no tecido adiposo visceral e subcutâneo (ADIPOQ, LEP e RETN) com os achados histopatológicos hepáticos.

## 8. ANEXOS:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** CORRELAÇÃO ENTRE ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS HEPÁTICOS E NÍVEIS DE ADIPOCINAS E INTERLEUCINAS EM PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIA BARIÁTRICA

**Pesquisador:** Cristiane Valle Tovo

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 36260414.2.0000.5345

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 885.039

**Data da Relatoria:** 19/11/2014

**Apresentação do Projeto:**

CORRELAÇÃO ENTRE ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS HEPÁTICOS E NÍVEIS DE ADIPOCINAS E INTERLEUCINAS EM PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIA BARIÁTRICA - está vinculado ao Pós Graduação da à UFCSPA e ao HNSC.

**Objetivo da Pesquisa:**

Investigar os níveis de interleucinas e adipocinas em pacientes obesos mórbidos submetidos à cirurgia bariátrica com diferentes graus de doença hepática gordurosa não-alcóolica, avaliando o potencial destes parâmetros como marcadores de sua evolução.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O projeto não apresenta riscos aos pacientes, uma vez que as amostras já foram coletadas durante às cirurgias. Com relação aos benefícios, já que investigará o componente genético dos pacientes, podem ser identificados graus de comprometimento hepático, podendo resultar em abordagens específicas e mais efetivas no seu tratamento.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Revisão bibliográfica, objetivos, material e métodos, cronograma e parte ética contempladas.

**Endereço:** Rua Sarmento Leite, 245

**Bairro:**

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 885.009

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos necessários foram enviados

**Recomendações:**

Aprovação

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovação

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Término do projeto dez/2015.

PORTO ALEGRE, 25 de Novembro de 2014

---

Assinado por:

Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima  
(Coordenador)

Endereço: Rua Sarmento Leite, 245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br



HOSPITAL A. SA CONCEIÇÃO S.A.  
R. Francisco de Assis, 100  
CEP 91201-900 - Porto Alegre - RS  
Fone: (51) 3399  
CNPJ 16.797.143/0001-20

HOSPITAL SA GRAMA CONCEIÇÃO  
Clínica Pastoral de Especialidades  
Barcelona - Conceição S.A.

HOSPITAL CRISTO REDEEMTOR S.A.  
R. Domingos Ruffini, 20  
CEP 91201-900 - Porto Alegre - RS  
Fone: (51) 3399  
CNPJ 16.797.143/0001-20

HOSPITAL HÉBER S.A.  
R. Marquês, 17  
CEP 91201-900 - Porto Alegre - RS  
Fone: (51) 3399  
CNPJ 16.797.143/0001-20



Vinculados ao Ministério da Saúde - Decreto nº 59.244/90

O Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo Hospitalar Conceição (CEP/GHC), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS desde 31/10/1997, pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0001105) e pelo FWA - Federalwide Assurance (FWA 00000378), em reunião ordinária realizada em 11 de fevereiro de 2015, avaliou o seguinte projeto de pesquisa:

**Projeto:** 14248

**Versão do Projeto:**

**Versão do TCLE:**

**Pesquisadores:**

RAFAEL BERGESCH D'INCAO

VANESSA SURÉ MATTEVI

CRISTIANE VALLE TOVO

**Título:** Correlação entre achados histopatológicos hepáticos e níveis de adipocinas e interleucinas em pacientes submetidos a cirurgia bariátrica.

Documentação: Aprovada

Aspectos Metodológicos: Adequados

Aspectos Éticos: Adequados

Parecer final: Este projeto de pesquisa, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (se aplicável), por estar de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais e complementares do Conselho Nacional de Saúde, especialmente a Resolução 466/12, obteve o parecer de APROVADO(S) neste CEP.

O Pesquisador responsável deve encaminhar dentro dos prazos estipulados, o(s) relatório(s) parcial(ais) e/ou final ao Comitê de ética em Pesquisa do GHC e o Centro de Resultados onde foi desenvolvida a pesquisa.

Porto Alegre, 11 de fevereiro de 2015.

Daniela Montano Wilhelms  
Vice-coordenadora do CEP-GHC