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

Caroline Becker Giacomazzi

Correlação entre os níveis de ferritina sérica e doença hepática gordurosa não-alcoólica em pacientes submetidos a cirurgia bariátrica

Porto Alegre
2020

Caroline Becker Giacomazzi

Correlação entre os níveis de ferritina sérica e doença hepática gordurosa não-alcoólica em pacientes submetidos a cirurgia bariátrica

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

Orientador: prof. Dr. Paulo Roberto Ott Fontes

Porto Alegre

2020

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

Becker Giacomazzi, Caroline

CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE FERRITINA SÉRICA E A DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA EM PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIA BARIÁTRICA Caroline Becker Giacomazzi. – 2020.
110 p: graf., tab.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia 2020.

Orientador (a): Paulo Roberto Ott Fontes
1. Ferritina Sérica. 2. Doença Hepática Gordurosa não-alcoólica. 3. Cirurgia Bariátrica. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, meu infindável agradecimento à toda minha família. Especialmente aos meus pais, Ana Lúcia e Luiz Otavio, pelo incentivo e oportunidades proporcionadas ao longo de toda minha formação acadêmica. Agradeço pela compreensão e apoio incondicional durante os períodos que estive ausente.

Ao meu orientador, Professor Dr. Paulo Roberto Ott Fontes, pelos ensinamentos desde a época da Residência em Cirurgia do Aparelho Digestivo, por seu exemplo de ética e cuidado com seus pacientes. Por sua dedicação à todos os alunos que já tiveram o privilégio de conviver e aprender tanto com as suas rotinas. Minha congratulação por suas observações e correções, que em muito contribuíram para este trabalho.

Igualmente, agradeço a Professora Dra. Cristiane Valle Tovo, por todo empenho e dedicação dispensados. Agradeço imensamente pela visão crítica e pelas sugestões com elevado e rigoroso nível científico. Pela referência de pesquisadora exemplar, que enriquece o Programa de Pós- Graduação em Hepatologia da UFCSPA.

Aos meus colegas Dr Guillermo e Kiss e Dr Sérgio Ricardo Pioner, pela amizade e parceria durante todo o mestrado. Pelo suporte durante os períodos das aulas e da elaboração deste trabalho, e, principalmente, por ressaltarem a importância do trabalho em equipe.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) tem se tornando um desafio na saúde pública, a medida que a prevalência da obesidade e sobrepeso vem aumentando em níveis endêmicos nos últimos anos. Diversos estudos estão sendo desenvolvidos na busca de métodos não invasivos e acessíveis para diagnosticar, estadiar e acompanhar a progressão da DHGNA. Os níveis de ferritina sérica (FS) estão comumente elevados em pacientes com DHGNA. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre os níveis de FS e a gravidade da DHGNA, explorando o papel da FS como marcador não invasivo de DHGNA. **METODOLOGIA:** Foram analisados os dados clínicos, antropométricos, laboratoriais e histológicos de 431 pacientes adultos portadores de obesidade, submetidos a cirurgia bariátrica. Os dados foram coletados no período pré-operatório e após o primeiro ano da cirurgia. **RESULTADOS:** A prevalência de hiperferritinemia no período pré-operatório foi de 18%. Na análise univariada, níveis de FS acima do limite superior da normalidade (LSN) foram significativamente associados ao aumento dos níveis de glicemia de jejum (GJ), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) bilirrubinas totais (BT) e uma menor contagem de plaquetas. Estes pacientes apresentaram também significativamente maior peso, prevalência em homens, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão arterial sistêmica (HAS) e graus histológicos mais avançados de DHGNA, em comparação com o grupo que possuía FS normal. Entretanto, a acurácia dos níveis de FS foi relativamente baixa, com índices de sensibilidade variando de 3-36%, e especificidade de 83-100%. Após análise de regressão múltipla, valores elevados de FS não foram preditores independentes de esteatose, esteatohepatite não-alcoólica (EHNA) ou fibrose hepática, e seus respectivos graus. Observou-se uma redução significativa dos níveis de FS após o primeiro ano da cirurgia bariátrica. **CONCLUSÃO:** Níveis de FS aumentados são comuns em pacientes com DHGNA, e estão associados à graus histológicos mais avançados; contudo, não foram considerados fatores preditores independentes de esteatose, EHNA ou fibrose. A FS é um exame de baixo custo e amplamente disponível, que apesar de apresentar uma baixa sensibilidade, possui uma especificidade de 83-100% para identificar as características histológicas da DHGNA (esteatose, EHNA e fibrose), podendo auxiliar no seguimento dos pacientes portadores de obesidade com DHGNA.

PALAVRAS-CHAVE: ferritina sérica; obesidade; doença hepática gordurosa não alcoólica; fibrose hepática; esteatohepatite não alcoólica.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become a challenge in public health, as the prevalence of obesity and overweight has been increasing in endemic levels in recent years. Several studies are being developed in the search for non-invasive and available methods to diagnose, stage and follow the progression of NAFLD. Serum ferritin (SF) levels are commonly elevated in NAFLD patients. The aim of this study was to assess the relationship between SF levels and NAFLD severity, exploring the role of SF as a non-invasive marker of NAFLD. **METHODOLOGY:** Clinical, anthropometric, laboratory and histological data of 431 adult patients with obesity, who underwent bariatric surgery, were analyzed. Data were collected in the preoperative period and after the first year of surgery. **RESULTS:** The prevalence of hyperferritinemia was 18% in the preoperative period. In the univariate analysis, SF levels above the upper limit of normal (ULN) were significantly associated with increased levels of fasting plasma glucose (FPG), aspartate aminotranferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) total bilirubins (TB) and a lower platelet count. These patients are also associated with higher weight, prevalence in men, diabetes melittus type 2 (DM2), systemic arterial hypertension (SAH) and more advanced histological degrees of NAFLD, compared to the group that had normal SF. However, the accuracy of the SF levels was relatively low, with sensitivity indices ranging from 3-36%, and specificity of 83-100%. After multiple regression analysis, elevated SF values were not independent predictors of steatosis, steatohepatitis (SH) or liver fibrosis, and their respective degrees. There was a significant reduction in FS levels after the first year of bariatric surgery ($P < 0.001$). **CONCLUSION:** Increased ferritin levels are common in patients with NAFLD, and are associated with more worse histological grades; however, were not considered independent predictors of steatosis, NASH or fibrosis. SF is a low-cost and widely available test, which despite having a low sensitivity, has a specificity of 83-100% to identify the histological characteristics of NAFLD (steatosis, NASH and fibrosis), and can assist in the follow up of obese patients with NAFLD.

KEYWORDS: serum ferritin; obesity; non-alcoholic fatty liver disease; hepatic fibrosis; non-alcoholic steatohepatitis.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Características demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes avaliados.

TABELA 2. Relação entre ferritina sérica e histologia hepática.

TABELA 3. Acurácia dos níveis séricos de ferritina.

TABELA 4. Ferritina sérica e pontos de corte de acordo com o sexo.

TABELA 5. Associação dos níveis de ferritina sérica com os desfechos histológicos.

TABELA 6. Fatores associados aos desfechos na análise multivariada.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Comparação da ferritina sérica pré–operatória e um ano após a cirurgia (N=247).

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AASLD – Associação Americana para o Estudo de Doenças do Fígado

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

AUROC – Área sob a curva característica de operação do receptor

CEP – Comitê de ética e pesquisa

CK18 – Citoqueratina 18

CHC – Carcinoma hepatocelular

CT – Colesterol total

CTO – Centro de Tratamento da Obesidade

DCV – Doença cardiovascular

DHGNA – Doença hepática gordurosa não-alcóolica

DM2 – *Diabetes mellitus* tipo 2

DHA – Doença hepática alcoólica

DHF – Hiperferritinemia dismetabólica

DIOS – Sobrecarga de ferro dismetabólica

DP – Desvio padrão

EASL – Associação Europeia para o Estudo do Fígado

EASD – Associação Europeia para o Estudo do Diabetes

EASO – Associação Europeia para o Estudo da Obesidade

EHNA – Esteatohepatite não-alcóolica

Escore ELF – *Enhanced Liver Fibrosis score*

ES – Esteatose simples

Escore ELF – European Liver Fibrosis panel

Escore NAS – *NAFLD fibrosis score*

EUA – Estados Unidos da América

FGDP – Fração de gordura da densidade de prótons

GGT – Gamaglutamiltransferase

GLP-1 – Peptídeo 1 do tipo glucagon

Hb – Hemoglobina

HDL – *High Density Lipoprotein*

IFSO – Federação Internacional de Cirurgia da Obesidade e Distúrbios Metabólicos

IMC – Índice de massa corporal

LDL – *Low Density Lipoprotein*

MAFLD – *Metabolic-dysfunction-associated fatty liver disease*

MRE – Elastografia transitória por ressonância magnética

NFκB – Fator nuclear potencializador de cadeias leves kappa de células B

OMS – Organização Mundial da Saúde

OR – *Odds Ratio*

PPAR – Receptor ativado por proliferador de peroxissoma

RM – Ressonância magnética

SBH – Sociedade Brasileira de Hepatologia

SM – Síndrome metabólica

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

TNF-a – Fator de necrose tumoral alfa

TC – Tomografia computadorizada

UFCSPA – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

USG – Ultrassonografia

VCTE – Elastografia transitória controlada por vibração

VHC –Vírus da hepatite C

VHB –Vírus da hepatite B

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 11
2. REVISÃO DA LITERATURA 12
2.1. DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA 12
2.1.1. Epidemiologia 13
2.1.2. Etiologia 15
2.1.3. Histopatologia 16
2.1.4. Diagnóstico 19
2.1.5. Tratamento 24
2.2. METABOLISMO DO FERRO 28
2.3. SOBRECARGA DE FERRO NA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCÓOLICA 30
3. JUSTIFICATIVA 37
4. OBJETIVOS 38
4.1. OBJETIVO GERAL 38
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 38
5. REFERÊNCIAS 39
6. ARTIGO CIENTÍFICO 53
7. CONCLUSÃO 82
8. ANEXOS 83

1. INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma das causas mais importantes de doença hepática no mundo, com uma prevalência global de aproximadamente 25%[1], e provavelmente, irá emergir como a principal causa de doença hepática terminal nas próximas décadas[2,3]. A DHGNA é uma doença complexa, que é afetada por fatores ambientais inter-relacionados e predisposição genética[2].

A síndrome metabólica (SM) tem íntima relação com a DHGNA. As estimativas globais de prevalência da SM em pacientes com DHGNA e com esteatohepatite não-alcoólica (EHNA) são de 42,54% e 70,65%, respectivamente[1]. A obesidade é o fator de risco mais comum e bem documentado para o desenvolvimento de DHGNA[4,5]. Entre os pacientes com obesidade severa submetidos a cirurgia bariátrica, a prevalência de DHGNA pode exceder 90%, e até 5% desses pacientes podem ter cirrose[6,7].

A biópsia hepática é considerada o exame padrão ouro para o diagnóstico e classificação da DHGNA, sendo capaz de avaliar o prognóstico e orientar seu tratamento[4,5,8,9]. Como não é plausível realizar uma biópsia hepática em todos os pacientes, inúmeras modalidades não invasivas estão sendo desenvolvidas para diagnosticar e estadiar a EHNA e a fibrose hepática. Isso inclui modelos preditivos como escores, biomarcadores séricos e métodos baseados em técnicas de imagem[10].

O tratamento bem-sucedido da EHNA deve melhorar os desfechos, ou seja, deve reduzir a mortalidade associada à EHNA e a progressão para cirrose ou carcinoma hepatocelular (CHC)[5]. Nos doentes que não respondem às alterações do estilo de vida e à farmacoterapia, a cirurgia bariátrica é uma opção para perda ponderal e controle das complicações metabólicas, com resultados estáveis a longo prazo[10]. Uma série de trabalhos indica que a cirurgia bariátrica é eficaz na melhoria das lesões hepáticas associadas à DHGNA, inclusive na necroinflamação e fibrose[6,10,11,16], com desaparecimento das lesões de EHNA em até 85% dos pacientes um ano após o procedimento[10].

A característica histológica mais importante da DHGNA associada à mortalidade a longo prazo é a fibrose[4]. A fibrose hepática está associada ao aumento da mortalidade geral e relacionada ao fígado, e à maior probabilidade de desenvolver complicações hepáticas[13]. O estágio histológico é, portanto, crucial para o prognóstico a longo prazo[11].

A ferritina sérica (FS) é utilizada em pacientes com DHGNA como parte da investigação laboratorial para descartar outras causas de doença hepática[14]. Os níveis de FS

são frequentemente elevados em pacientes com DHGNA, acometendo entre 20% a 40% dos pacientes[15,16]. Entretanto, não está claro se a hiperferritinemia é simplesmente uma consequência da gravidade da DHGNA ou contribui ativamente para a progressão da doença[14,15,17].

Estudos anteriores que examinaram a relação entre o nível de FS e a gravidade histológica na DHGNA encontraram resultados conflitantes, sendo descrita a associação entre os níveis de FS e o aumento da gravidade histológica e da presença de EHNA e fibrose[15,16,18,19,20,21,22,23,24,25,26], enquanto outros autores não observam esta associação[9,14,27,28]. Nesse contexto, a FS foi proposta como um marcador de EHNA e fibrose hepática, sendo incorporada em painéis para avaliação da fibrose hepática[29,30,31]. Mais recentemente, a FS foi proposta como um preditor independente de mortalidade a longo prazo na DHGNA[16].

O objetivo do presente estudo foi de estudar a relação entre os níveis de FS e os achados clínicos, antropométricos, laboratoriais e histológicos em pacientes adultos, portadores de obesidade, em acompanhamento no Centro de Tratamento da Obesidade do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, com o intuito de identificar se os níveis aumentados de FS poderiam se correlacionar com graus mais avançados de DHGNA.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é definida como o acúmulo de gordura nos hepatócitos, através de exames de imagem ou histologia, na ausência de causas secundárias como o consumo de álcool, uso de medicações esteatogênicas ou doenças hereditárias[4]. A DHNA inclui um espectro com diferentes prognósticos: esteatose simples (ES) e esteatohepatite não alcoólica (EHNA); esta última pode evoluir para cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC)[4,5].

A ES é definida como a presença de esteatose hepática igual ou superior a 5%, sem evidência de lesão hepatocelular na forma de balonização de hepatócitos. A EHNA é definida como a presença de esteatose hepática e inflamação igual ou superior a 5%, com lesão de hepatócitos (por exemplo, balonização), com ou sem fibrose[4].

Recentemente, uma nova nomenclatura para a DHGNA foi proposta. Utilizando um conjunto de critérios diagnósticos positivos, evitando que uma doença tão prevalente tenha seu diagnóstico baseado em critérios de exclusão, originou-se o termo doença hepática

gordurosa associada à disfunção metabólica (*Metabolic-dysfunction-associated fatty liver disease* - MAFLD). O diagnóstico é baseado no reconhecimento de anormalidades subjacentes na saúde metabólica, com a aceitação de que a MAFLD pode comumente coexistir com outras condições, como hepatites virais e doença hepática alcoólica (DHA)[32,33].

A definição de consumo significativo de álcool nos estudos sobre DHGNA varia na literatura. O consumo diário de álcool acima de 30 g para o sexo masculino e 20 g para o sexo feminino indica doença hepática alcoólica[5,34]. Outra forma de avaliar corresponde ao número de doses: superior a 21 doses padrão em média por semana para homens e superior a 14 doses padrão em média por semana para mulheres é um limiar razoável para consumo significativo de álcool ao avaliar pacientes com suspeita de DHGNA[4].

2.1.1. Epidemiologia

A DHGNA é uma das causas mais importantes de doença hepática no mundo, e provavelmente, irá emergir como a principal causa de doença hepática terminal nas próximas décadas[2,3]. Isso é confirmado pelo número crescente de pacientes com DHGNA que apresentam CHC ou que necessitam de transplante hepático. De fato, a EHNA atualmente é classificada como a segunda causa mais comum de transplante hepático nos Estados Unidos da América (EUA), e provavelmente, ultrapassará as hepatites virais como a causa número um de transplante no futuro[35], à medida que mais pacientes com vírus da hepatite C (VHC) forem tratados com regimes antivirais altamente curativos e devido à vacinação eficaz contra o vírus da hepatite B (VHB)[27,36].

A prevalência da DHGNA pode variar de acordo com a população estudada e com o método diagnóstico utilizado[1,11]. Pesquisas baseadas na elevação de enzimas hepáticas subestimam a prevalência real da doença. Através de metanálise de estudos utilizando ultrassonografia (USG) ou ressonância magnética (RM) por espectroscopia de prótons estima-se uma prevalência global de DHGNA de aproximadamente 25%. Os índices mais elevados encontram-se na América do Sul (31%) e Oriente Médio (32%), seguidos pela Ásia (27%), EUA (24%) e Europa (23%), enquanto o local menos comum é a África (14%)[1]. Embora escassos, a maioria dos estudos que relatam a prevalência de DHGNA na América do Sul foram realizados no Brasil[2]. A prevalência estimada de DHGNA no Brasil em dois estudos foi similar, correspondendo a 32% e 36% da população estudada[38,39]. Já a prevalência de EHNA na população geral varia entre 1,5% e 6,45%, e pode chegar a 59% nos pacientes com DHGNA com indicação de biópsia hepática[1].

Os dados sobre a incidência de DHGNA são bastante escassos. Dos dados disponíveis, a incidência estimada de DHGNA é relatada entre 28 e 52/1000 pessoas/ano[1]. No entanto, essas taxas de incidência provavelmente são subestimadas, dada a crescente incidência de obesidade e diabetes, dois dos principais fatores de risco associados à DHGNA[8].

A DHGNA tornou-se um problema de saúde pública desafiador, uma vez que as prevalências de obesidade e excesso de peso têm aumentado em níveis epidêmicos nas últimas décadas[11,40]. Em 2016, a Organização Mundial da Saúde (OMS) informou que as taxas mundiais de sobrepeso e obesidade quase triplicaram desde 1975; mais de 1,9 bilhão de adultos (18 anos ou mais) estavam acima do peso, dos quais 650 milhões eram obesos (13% da população adulta mundial)[41]. Dados da OMS indicam que os EUA têm o maior número de adultos obesos (109.342.839), seguidos pela China (97.256.700), Índia (65,619,826), e em quarto lugar, o Brasil, com 41,857,656 adultos obesos em 2017[37].

Embora a DHGNA tenha sido inicialmente relatada como mais prevalente entre os hispânicos, atualmente é observada em todas as regiões do mundo[1,8]. Uma menor suscetibilidade é observada em indivíduos negros. Uma revisão sistemática sugeriu que a menor incidência e prevalência de DHGNA e EHNA em afro-americanos nos EUA estaria relacionada a diferenças genéticas no metabolismo lipídico; ou seja, esse grupo apresentou níveis séricos mais baixos de triglicerídeos e níveis séricos mais altos de colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL- *High Density Lipoprotein*) do que pacientes com DHGNA hispânicos ou brancos[42].

Pacientes com DHGNA, especialmente aqueles com EHNA têm maior mortalidade por causas hepáticas e, possivelmente, mortalidade geral[1]. Embora o risco de mortalidade relacionada ao fígado seja aumentado em pacientes com DHGNA e estágios de fibrose hepática F3 ou F4, a principal causa de morte nestes indivíduos é a doença cardiovascular (DCV)[5,43].

O CHC associado a DHGNA pode ser diagnosticado nos estadios mais avançados pela vigilância menos sistemática e por menores índices de tratamento[5]. Ao diagnóstico, os pacientes com CHC associado a DHGNA costumam ser mais velhos e têm mais comorbidades extra-hepáticas do que aqueles com CHC sem DHGNA; no entanto, apresentam uma menor prevalência de cirrose (apenas 2/3 dos casos). Em um estudo americano com 1.550 pacientes com diagnóstico de CHC, aproximadamente 13% não possuíam cirrose, constatando que a presença de DHGNA é um fator independentemente associado ao CHC na ausência de cirrose[44]. Apesar de ser considerada um fator de risco para

o CHC, atualmente não existem recomendações sobre plano de vigilância da DHGNA e sua efetividade[5].

Embora o VHC continue sendo a principal etiologia de doença hepática crônica, a DHGNA é a etiologia que mais cresce nos últimos anos. Em 2013, a DHGNA tornou-se a segunda etiologia mais comum de transplante hepático nos EUA[35]. A sobrevida dos pacientes com e sem DHGNA após 1, 3 e 5 anos do transplante hepático é semelhante. No entanto, os pacientes com DHGNA têm maior probabilidade de morrer de complicações cardiovasculares ou sepse[45].

2.1.2. Etiologia

A DHGNA é uma doença complexa, que é afetada por fatores ambientais inter-relacionados e predisposição genética. A contribuição exata de cada um dos componentes genéticos ou ambientais no desenvolvimento da DHGNA ainda não está bem clara, e pode variar em diferentes regiões[2]. Alguns fatores de risco já foram bem estabelecidos. O aumento da idade apresenta correlação direta com a prevalência de DHGNA, possivelmente devido ao aumento da resistência insulínica e da incidência de síndrome metabólica (SM) que ocorre ao longo dos anos[1]. Embora seja variável, a DHGNA geralmente ocorre em uma taxa mais elevada entre os homens do que entre as mulheres[4,13,43,46,47] .

A SM tem íntima relação com a DHGNA. As estimativas globais de prevalência da SM em pacientes com DHGNA e com EHNA são de 42,54% e 70,65%, respectivamente[1]. A DHGNA é considerada a manifestação hepática da SM[46], que é definida pela presença de três dos cinco critérios: glicemia em jejum alterada (maior ou igual a 100 mg/dl) ou tratamento para *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), pressão arterial maior ou igual a 130/85mmHg ou tratamento para a hipertensão, hipertrigliceridemia (triglicerídeos superior a 150mg/dl), diminuição do colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL menor que 40/50 mg/dl para homens/mulheres) e aumento da circunferência abdominal (maior ou igual a 94/ 80cm para homens/mulheres caucasianos)[4,5].

Devido à essa associação bidirecional entre DHGNA e SM, todos os indivíduos com DHGNA devem fazer rastreio para as características da SM, independentemente dos níveis de enzima hepáticas; e de igual modo, a presença de SM em qualquer doente deve levar a uma avaliação do risco de DHGNA[7].

A obesidade é o fator de risco mais comum e bem documentado para DHGNA[4,5]. Vários estudos revelaram altas taxas de DHGNA entre populações obesas submetidas a

cirurgia bariátrica[11,48], nos quais a prevalência de DHGNA pode exceder 90%, e até 5% podem apresentar cirrose inesperada[6]. A obesidade deve levar à inclusão dos doentes em um programa estruturado de perda ponderal e/ou à referenciação a um especialista em obesidade. Todos os casos devem fazer rastreio completo de DCV[5].

A DM2 é um importante fator de risco para a DHGNA. A prevalência global de DHGNA entre pacientes com DM2 é de 55,5%. A DM2 parece acelerar a progressão da doença hepática na DHGNA[49,52], e o controle glicêmico deficiente aumenta o risco de fibrose na EHNA[1].

A dislipidemia pode estar presente em 69% dos pacientes com DHGNA e 72% dos pacientes com EHNA. A alta prevalência de SM e hiperlipidemia em pacientes com DHGNA sugere que estratificação de risco e tratamento agressivo são necessários para controlar o risco de DCV nesses pacientes[1].

2.1.3. Histopatologia

A DHGNA não era reconhecida como uma causa de elevação de enzimas hepáticas antes da década de 80[53]. Historicamente, a terminologia e os conceitos das características histopatológicas da DHGNA foram derivados da doença hepática alcoólica[54].

O termo EHNA foi utilizado pela primeira vez em 1980 por Ludwig et all, na Clínica Mayo, para descrever 20 pacientes com alterações na biópsia hepática compatíveis com hepatite alcoólica, no entanto, na ausência de consumo excessivo de álcool. O estudo caracterizou as amostras de tecido hepático pela presença de alterações gordurosas marcantes, com evidências de hepatite lobular, necrose focal com infiltrado inflamatório misto e, na maioria dos casos, corpos de Mallory. Evidências de fibrose foram encontradas na maioria das amostras e cirrose foi diagnosticada em três pacientes. A doença era mais comum em mulheres. A maioria dos pacientes era obeso e muitos apresentavam doenças associadas à obesidade, como DM2 e colelitíase. Presença de hepatomegalia e anormalidades leves da função hepática foram achados clínicos comuns no estudo[55].

Embora possa haver diferenças de grau, as características histológicas da hepatite gordurosa alcoólica e da hepatite gordurosa não alcoólica são suficientemente semelhantes para impedir um diagnóstico etiológico baseado apenas na histologia. As características histopatológicas que são investigadas incluem: acúmulo de triglicerídeos hepatocelulares; lesão hepatocelular em localização centrolobular, que é mais grave na zona acinar; dano citoesquelético mostrado como balonização hepatocelular, com ou sem corpos de Mallory-

Denk; inflamação parenquimatosa com predomínio de linfócitos e macrófagos, embora neutrófilos possam estar presentes em casos graves; e fibrose perisinusoidal, vista como deposição de colágeno no espaço de Disse[8].

Os objetivos da avaliação histopatológica em um indivíduo com suspeita de DHGNA incluem a confirmação ou exclusão do diagnóstico e identificar a gravidade da doença. O laudo da patologia deve incluir uma distinção entre ES e EHNA (esteatose com inflamação lobular e portal e balonização hepatocelular). Um comentário sobre a gravidade (leve, moderada ou grave) pode ser útil. A presença ou ausência de fibrose deve ser descrita. Se presente, uma declaração adicional relacionada à localização, quantidade e remodelação do parênquima é necessária[4].

Sistemas de pontuação específicos podem ser utilizados conforme apropriado[4]. Existem três sistemas atualmente em uso: o escore de Brunt[56], o escore NASH CRN[57] e o escore SAF (esteatose, atividade e fibrose)[58].

O escore de Brunt foi proposto como um método para graduar a gravidade da EHNA, e não se destinava a ser aplicado a casos que não atendiam aos critérios mínimos para esteatohepatite. A classificação da esteatohepatite em leve, moderada e grave foi baseada em uma impressão geral da gravidade da esteatose, inflamação e principalmente da balonização de hepatócitos[56].

O sistema NASH CRN foi desenvolvido especificamente para uso em ensaios clínicos e estudos de história natural da doença como um método detalhado para rastrear alterações histológicas. Ele foi projetado para cobrir o espectro de mudanças desde as formas mais leves de esteatose até as formas mais graves de esteatohepatite[59]. O escore desenvolvido foi o *NAFLD Activity Score* (escore NAS), que atribuiu um grau numérico a cada item, de modo que a gravidade da esteatose fosse classificada de 0 a 3, a balonização hepatocelular de 0 a 2, e a inflamação lobular de 0 a 3[57]. A pontuação do escore NAS equivale a soma não ponderada desses três números, variando de 0 a 8. A melhora na gravidade histológica é acompanhada por uma diminuição no escore NAS[10]. Entretanto, este escore não deve ser utilizado para o diagnóstico da EHNA, mas sim para a avaliação da gravidade da doença, quando o diagnóstico já foi estabelecido pela avaliação histológica global[5,60] .

O sistema SAF é o mais recente e ainda não foi amplamente utilizado em ensaios clínicos[59]. Foi publicado em 2012, como um algoritmo histopatológico e sistema de pontuação para avaliação de lesões hepáticas em pacientes com obesidade mórbida. Embora, aparentemente, o SAF pareça ser um sistema muito semelhante, este escore separa o grau de

esteatose (S) do grau de atividade necroinflamatória (A) e, portanto, pode fornecer maior particularidade em termos de atividade da doença e ajudar a distinguir a esteatose da ENHA[8].

O estadiamento da fibrose é pontuado separadamente, por ser considerado um sinal do estágio da doença, e não um grau de lesão. No sistema NASH CRN, é classificada como: fibrose estágio 0 (sem fibrose); estágio 1 (fibrose pericelular centrolobular ou fibrose periportal em crianças); estágio 2 (fibrose centrolobular e periportal); estágio 3 (fibrose em ponte); e estágio 4 (cirrose)[59].

Finalmente, nenhum sistema de pontuação histológica pretende substituir a descrição analítica da biópsia hepática[58]. Embora sejam confiáveis e úteis, não resumem todas as informações veiculadas por uma biópsia hepática, e devem servir como ferramentas adicionais na compreensão das lesões hepáticas[61].

Apesar de sua alta prevalência, apenas uma pequena minoria de pacientes com DHGNA desenvolve inflamação e subsequentemente fibrose e doença hepática crônica, enquanto a maioria deles exibe apenas esteatose simples[62]. Embora a maioria dos pacientes apresente um curso relativamente benigno, é vital diferenciar os 25% a 30% dos pacientes com EHNA, daqueles com DHGNA sem EHNA[63].

O conhecimento da patogênese da DHGNA é de extrema importância. A hipótese de "dois *hits*" ou “dois gatilhos”, atribui o acúmulo hepático de lipídios ao estilo de vida sedentário, dieta rica em gordura, obesidade e resistência à insulina, que atuaria como o “primeiro *hit”,* sensibilizando o fígado a novas injúrias, que por sua vez, levariam ao “segundo *hit*”, ativando cascatas inflamatórias e a fibrogênese[64]. Atualmente esta hipótese é inadequada para explicar as várias mudanças moleculares e metabólicas que ocorrem na DHGNA. Sendo assim, a hipótese de “múltiplos *hits*” considera múltiplas injúrias agindo em conjunto, em indivíduos geneticamente predispostos para induzir DHGNA. Esses hits incluem resistência à insulina, hormônios secretados pelo tecido adiposo, fatores nutricionais, microbiota intestinal e fatores genéticos e epigenéticos[65,66].

A característica histológica mais importante da DHGNA associada à mortalidade a longo prazo é a fibrose[4]. A fibrose hepática está associada ao aumento da mortalidade geral e relacionada ao fígado, à maior probabilidade de desenvolver complicações hepáticas e ao transplante hepático[13]. Essa associação de fibrose hepática com resultados a longo prazo independe da presença ou gravidade de outras características histológicas e do escore de atividade NAS; ou seja, a presença e a gravidade da fibrose, independentemente do

diagnóstico de EHNA, é que ditam o prognóstico dos pacientes com DHGNA[43,67,68,69,70]. O estágio histológico é, portanto, crucial para o prognóstico a longo prazo[11].

Em estudo publicado por Ekstedt e colaboradores, o estágio de fibrose foi o preditor mais significativo para mortalidade específica por doença na DHGNA, após até 33 anos de acompanhamento. A mortalidade geral não aumentou em pacientes com escore NAS 5 a 8 e fibrose estágio 0 a 2, enquanto os pacientes com fibrose estágio 3 e 4, independentemente de escore NAS, tiveram mortalidade aumentada. O escore NAS não foi capaz de prever a mortalidade geral, ao passo que o estágio da fibrose previu a mortalidade geral e específica da doença[13].

Acredita-se que a progressão da fibrose e da remodelação arquitetônica se desenvolva em 10% a 15% dos pacientes com EHNA e a cirrose em 15% a 25%[71]. Em geral, a DHNA progride lentamente tanto nos adultos como nas crianças, mas a fibrose progride rapidamente em 20% dos casos. A taxa de progressão corresponde a um estadio de fibrose a cada 14 anos na ES e a cada 7 anos na EHNA, e pode duplicar quando há hipertensão arterial associada. É importante reconhecer que os fatores mais fortemente associados à progressão da DHGNA incluem idade avançada (embora isso possa estar mais relacionado ao tempo de exposição do que a idade real), presença de obesidade visceral, presença de DM2 ou resistência à insulina[72]. Nesse contexto, o foco principal do atendimento clínico é discernir pacientes com DHGNA com maior risco de complicações relacionadas ao fígado[2].

2.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico da DHGNA requer habitualmente a presença de esteatose hepática, através de exame de imagem ou histologia, ausência de consumo significativo de álcool, ausência de outras etiologias para a esteatose, e a exclusão de causas coexistentes de doença hepática crônica. As causas mais comuns de esteatose hepática que devem ser investigadas são o consumo significativo de álcool, hepatite C, uso de medicamentos, nutrição parenteral, doença de Wilson e desnutrição grave. É importante excluir também as demais causas de doença hepática crônica, como hemocromatose, doença hepática auto-imune, hepatite viral crônica, deficiência de alfa-1 antitripsina, doença de Wilson e lesão hepática induzida por drogas[4]. Uma vez descartadas outras causas de esteatose, o diagnóstico de DHGNA deve ser considerado. Nesse contexto, deve ser determinada a presença de comorbidades comumente associadas, como obesidade, dislipidemia, resistência à insulina ou diabetes, hipotireoidismo, síndrome dos ovários policísticos e apneia do sono[8].

Recentemente, um grupo internacional de pesquisadores sugeriu a modificação na nomenclatura e nos critérios diagnósticos. Sendo assim, a DHGNA passa a ser denominada de MAFLD (*metabolic associated fatty liver disease* – ainda sem equivalência para o português), e os novos critérios propõem um um diagnóstico positivo de MAFLD, baseados em evidências histológicas, de imagem ou de biomarcadores sanguíneos de esteatose hepática, além de um dos seguintes três critérios: sobrepeso/obesidade, presença de DM2 ou evidência de desregulação metabólica. A desregulação metabólica é definida pela presença de pelo menos duas anormalidades de risco metabólico: circunferência abdominal ≥ 102/88 cm em homens/mulheres caucasianos e ≥ 90/80 cm em homens/mulheres asiáticos; pressão arterial maior ou igual a 130/85 mmHg ou uso de anti-hipertensivo; triglicerídeos igual ou superior 150 mg/dL ou tratamento medicamentoso específico; colesterol HDL plasmático inferior a 40 mg/dL para homens e inferior a 50 mg/dL para mulheres ou tratamento medicamentoso específico; pré-diabetes (glicemia jejum 100-125 mg/dL, ou glicemia 2 horas pós-dextrosol 140-199 mg/dL) ou hemoglobina glicada de 5,7% a 6,4%; modelo de avaliação da homeostase (HOMA) escore ≥ 2,5; proteína C reativa ultrassensível superior a 2 mg/L[32]. Esta proposta ainda necessita validação para ampla implementação.

A biópsia hepática permanece sendo o exame padrão ouro para o diagnóstico e classificação da DHGNA; ela é essencial para diferenciar esteatose simples de EHNA e para o estadiamento da fibrose, e assim, é capaz de avaliar o prognóstico da doença e orientar seu tratamento[4,7,8,9,73].

Como não é plausível realizar uma biópsia hepática em todos os pacientes, esta deve ser considerada em pacientes com DHGNA que apresentam maior risco de doença avançada[74]. Segundo a Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBH), a biópsia hepática deve ser recomendada nas seguintes situações: pacientes com suspeita de EHNA e no diagnóstico diferencial com outras doenças crônicas do fígado; pacientes com DHGNA com risco elevado de ter EHNA e/ou fibrose avançada sugerida pelos marcadores sorológicos e/ou elastografia hepática; pacientes com enzimas hepáticas (alanina aminotransferase [ALT] /aspartato aminotransferase [AST]) elevadas por mais de três meses e pacientes portadores de SM não controlada com medidas comportamentais depois de seis meses. A biópsia hepática também pode ser recomendada em pacientes com níveis persistentemente elevados de FS aumento da saturação de ferro, especialmente em pacientes com mutações do gene HFE[75].

Embora a biópsia hepática seja a modalidade mais precisa para diagnosticar e especificar a gravidade da EHNA, trata-se de um método invasivo, dispendioso, associada a

complicações potenciais e influenciada pela variabilidade interobservador das características patológicas individuais. Um número de modalidades não invasivas para diagnosticar e estadiar EHNA e fibrose hepática está sendo desenvolvido. Isso inclui modelos preditivos como escores, biomarcadores séricos e testes baseados em técnicas radiológicas[8,73,76,77].

No contexto da DHGNA, o primeiro desafio diagnóstico é mostrar com precisão a presença de gordura no fígado. Atualmente, 20% a 33% é considerado um nível confiável no qual a esteatose é detectada por métodos de imagem convencionais; no entanto, a presença de gordura superior a 5% já é considerada anormal[78]. Deste modo, pode-se dizer que a ultrassonografia (USG), a tomografia computadorizada (TC) ou a ressonância magnética (RM) de abdome diagnosticam adequadamente a esteatose moderada a grave e fornecem informações hepatobiliares adicionais, e por isso, devem ser realizadas como exames diagnósticos de primeira linha[5].

Devido, em parte, às limitações de outros testes não invasivos, a USG continua sendo a modalidade de imagem mais utilizada para diagnosticar e classificar a esteatose hepática[73,79]. A USG é amplamente disponível, segura, bem tolerada e relativamente barata, e pode ser executada em scanners de qualquer fabricante[5,79].

Em contraste com outras técnicas de imagem, como USG e TC, que avaliam a esteatose hepática através de parâmetros como atenuação e ecogenicidade, a RM quantifica a esteatose hepática medindo a fração de gordura da densidade de prótons (FGDP), que é a fração de prótons visíveis à RM, ligada à gordura, dividida por todos os prótons no fígado (ligados à gordura e à água)[57]. Dessa forma, a espectroscopia por RM quantifica a FGDP, sendo considerado o teste com melhor acurácia para quantificar a esteatose hepática[73]. No entanto, as limitações deste método incluem: disponibilidade restrita, necessidade de conhecimento em prescrição de protocolo, coleta de dados e análise espectral[8]. Esta técnica é muito útil nos ensaios clínicos e nos estudos experimentais, mas é dispendiosa e não é recomendada no contexo clínico[5].

Além dos testes não invasivos baseados nas modalidades de imagem, há uma tentativa de definir biomarcadores não-invasivos usando modelos preditivos ou biomarcadores séricos. Esses marcadores não-invasivos incluem aqueles baseados nos níveis de ALT, FS, aqueles que incluem componentes da síndrome metabólica, dosagem de níveis de fragmentos circulantes de citoqueratina-18, bem como testes baseados em marcadores solúveis, como Fibrometer, painéis de microRNA e painéis lipidômicos[8,80].

Devido à modesta acurácia dos marcadores individuais de EHNA, combinações de marcadores foram examinadas para aumentar a utilidade diagnóstica[73]. As melhores pontuações validadas de esteatose são o índice do fígado gordo (FLI), o SteatoTest® e o NAFLD-liver fat score (NAFLD-LFS). Todas estas foram validadas externamente na população geral ou nos indivíduos com obesidade de grau III, e preveem os desfechos e mortalidade metabólicos, hepáticos e cardiovasculares. Estas pontuações estão associadas a resistência insulínica e preveem adequadamente a presença, mas não a gravidade, da esteatose[5].

Os biomarcadores séricos são a melhor opção para estudos de rastreio em larga escala, visto que a disponibilidade e o custo dos exames de imagem afeta consideravelmente a viabilidade[5]. Utilizando biópsias hepáticas para diagnosticar EHNA, um estudo determinou que a frequência de EHNA em indivíduos com ALT normal (inferior a 35 U/L) era de 11%, enquanto naqueles com ALT elevada (maior ou igual a 35 U/L) era de 29%, e se o ALT fosse aumentado duas vezes o limite superior do normal (superior a 70 U/L), apresentava sensibilidade de 50% e especificidade de 61% para EHNA[81]. Paradoxalmente, em meta-análise recente, foi investigada a proporção de pacientes com DHGNA com valor normal de ALT no total de pacientes com DHGNA. Observou-se que 25% dos pacientes com DHGNA e 19% pacientes com EHNA tinham os valores normais de ALT no total de pacientes com DHGNA e EHNA. O valor da ALT como indicador metabólico significativo não possui precisão suficiente para diagnosticar a DHGNA e a EHNA[36,82], mas pode servir de alerta e indicar o rastreio da DHGNA[36,48], pois esta doença é a principal causa do aumento inexplicado de enzimas hepáticas[5].

Os níveis plasmáticos de fragmentos de citoqueratina-18 (CK-18) são um marcador de apoptose de hepatócitos[73]. No ano de 2009, Feldstein et al, descobriram que os níveis de CK-18 eram preditores de EHNA em pacientes com DHGNA[29]. Desde a liberação de suas observações, houve intensas investigações sobre níveis circulantes aumentados de fragmentos de CK-18 e sua associação com EHNA. Todavia, existem vários problemas em relação a esse método diagnóstico, como a falta de um teste clínico disponível no mercado, baixa reprodutibilidade com sensibilidade e especificidade limitada no nível individual do paciente e a falta de um ponto de corte claro que limita sua utilidade clínica no momento[8].

A hiperferritinemia está associada à EHNA, e a utilização da FS como um teste laboratorial clinicamente disponível tem sido sugerida para orientar o tratamento da doença. A FS tem sido incluída em escores não-invasivos para predizer maior gravidade da DHGNA.

De fato, um escore incorporando níveis de FS já foi desenvolvido e validado para a triagem de EHNA em uma coorte de pacientes japoneses[83]. No entanto, esse sistema de pontuação exigiu medições de colágeno 7S tipo IV, que não são disponíveis na prática clínica e consequentemente resultando em uma limitação ao seu uso[9].

Em um estudo com 405 pacientes com DHGNA, a adição de AST, Índice de massa corporal (IMC), contagem de plaquetas, DM e HAS aos níveis de FS aumentou o AUROC para o diagnóstico de EHNA para 0,81, em comparação com um AUROC de 0,62 quando a FS foi utilizada isoladamente[80].

O diagnóstico da EHNA fornece informação prognóstica importante e pode indicar um aumento do risco de progressão da fibrose, evolução para cirrose e possíveis comorbidades hepáticas, como o CHC. A EHNA também pode indicar um seguimento estrito e, possivelmente, a necessidade de uma terapêutica mais intensiva[5].

Na prática clínica, não há nenhum algoritmo universalmente aceito no diagnóstico e abordagem da fibrose no contexto da DHGNA[77]. As ferramentas não-invasivas comumente utilizadas para avaliar a presença de fibrose avançada na DHGNA incluem parâmetros clínicos (NAFLD escore, índice FIB-4, Índice da razão AST/plaquetas [APRI]), biomarcadores séricos *(Enhanced Liver Fibrosis [ELF]*, Fibrometer, FibroTest® e Hepascore) ou imagem (elastografia transitória [FibroScan], elastografia por RM, imagem de impulso de força de radiação acústica [ARFI] e elastografia de onda de cisalhamento supersônica [*shear-wave*])[4,63,84].

Muitos marcadores têm demonstrado precisão diagnóstica aceitável[85]. O NAFLD escore e o índice FIB-4 foram validados externamente em populações multiétnicas com DHGNA, obtendo resultados consistentes. O NAFLD escore, o FIB-4, o ELF escore e o FibroTest® preveem mortalidade global, mortalidade cardiovascular e mortalidade específica por hepatopatia[5,13]. Apesar do uso de marcadores não invasivos da doença hepática crônica, a biópsia hepática permanece o padrão-ouro para a avaliação da fibrose na DHGNA[18,71].

Atualmente, as modalidades de imagem que utilizam elastografia hepática ganharam ampla aceitação para a avaliação de fibrose. A modalidade de imagem mais validada em uso para pacientes com DHGNA é a elastografia hepática transitória controlada por vibração (VCTE). Utilizando a sonda XL, 90% dos pacientes podem superar as limitações desta tecnologia[63]. A elastografia hepática transitória mede a rigidez do fígado de maneira não invasiva. É melhor para identificar fibrose avançada ou para afastar a presença de fibrose, devido ao seu alto valor preditivo negativo. Mas apresenta desempenho mais modesto nos

graus intermediários de fibrose[63,86]. As principais desvantagens deste exame são os resultados não confiáveis na presença de IMC elevado[5] e naqueles com ascite significativa[59]. Sendo assim, a elastografia por RM é o teste mais preciso para avaliar a fibrose, mas seu uso é limitado pelo custo e pela disponibilidade[73]. É razoável usar testes baseados em USG em indivíduos não obesos e considerar o uso de elastografia por RM em indivíduos com obesidade, especialmente obesidade mórbida[87].

As diretrizes atuais fornecem recomendações conflitantes sobre o rastreio da DHGNA[88]. As diretrizes conjuntas da Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL), Associação Europeia para o Estudo do Diabetes (EASD) e da Associação Europeia para o Estudo da Obesidade (EASO), não recomendam que o rastreio seja realizado para população geral. No entanto, pacientes com maior risco de formas progressivas de DHGNA, como os portadores de obesidade ou SM, devem ser submetidos a USG abdominal e dosagem de biomarcadores séricos e enzimas hepáticas para o rastreio não invasivo da esteatose, EHNA e fibrose. Além disto, também devem ser avaliados o consumo de álcool e a investigação de outras doenças hepáticas crônicas, pois podem originar lesões hepáticas mais graves[5,52].

No entanto, segundo a AASLD (Associação Americana para o Estudo de Doenças do Fígado), o rastreamento de rotina para DHGNA em grupos de alto risco não é recomendado no momento, devido às incertezas em torno dos testes para diagnóstico e das opções de tratamento, além da falta de conhecimento relacionado aos benefícios a longo prazo e relação custo-benefício da triagem[4,89]. O consenso da SBH orienta que no momento, não existe uma definição de política para o rastreamento de pacientes com alto risco de desenvolver DHGNA[75]. Por fim, a triagem para EHNA provavelmente será custo-efetiva quando estiverem disponíveis medicamentos com alta eficácia e efeitos adversos aceitáveis[2].

2.1.5. Tratamento

O manejo da DHGNA deve contemplar o tratamento da doença hepática, bem como das comorbidades metabólicas associadas, como obesidade, hiperlipidemia, resistência insulínica e DM2. Dado que pacientes com DHGNA sem EHNA ou qualquer fibrose têm excelente prognóstico do ponto de vista hepático, os tratamentos farmacológicos voltados principalmente para melhorar a doença hepática geralmente devem ser limitados àqueles com EHNA e fibrose comprovadas por biópsia hepática[4,90].

O tratamento bem-sucedido deve reduzir a mortalidade e a progressão da EHNA para cirrose ou CHC. A resolução das lesões histológicas que definem a EHNA atualmente é aceita como um desfecho substituto, especialmente nos ensaios clínicos[7,34].

A modificação do estilo de vida que consiste em dieta, exercício físico e perda de peso tem sido defendida no tratamento de pacientes com DHGNA. Os melhores dados gerados até o momento demonstram que a perda de peso é a chave para a melhoria das características histopatológicas da EHNA[4,90]. Uma combinação de dieta hipocalórica (redução diária de 500 a 1.000 kcal) e exercício de intensidade moderada provavelmente fornecerá a melhor probabilidade de sustentar a perda de peso a longo prazo. A perda de peso de pelo menos 3% a 5% do peso corporal parece necessária para melhorar a esteatose, mas é necessária uma maior perda de peso (7% a 10%) para melhorar a maioria das características histopatológicas da EHNA, incluindo fibrose[3,4,5].

Os alvos da terapia medicamentosa, tanto das existentes como as que são objeto de pesquisas, baseiam-se na patogênese da doença, com foco na resistência insulínica, no estresse oxidativo e no processo inflamatório, todos componentes essenciais para a evolução da esteatose simples para EHNA e fibrose[91].

A farmacoterapia deve ser reservada para doentes com EHNA, particularmente para aqueles com fibrose significativa (estágio F2 e superior). Os doentes com doença menos grave, mas como alto risco de progressão (diabetes, SM, aumento persistente da ALT e/ou necroinflamação), também podem ser candidatos ao tratamento, para prevenir a progressão da doença[4,5].

Em relação ao tratamento medicamentoso, a metformina não é recomendada no tratamento da EHNA em pacientes adultos. Embora vários estudos tenham demonstrado uma melhora nas aminotransferases séricas e na resistência insulínica, a metformina não melhora significativamente a histologia hepática[4,5].

As tiazolidinedionas são agonistas do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR) com efeitos insulinossensibilizantes[5]. A pioglitazona melhora a histologia hepática em pacientes com e sem DM2 com EHNA comprovado por biópsia. Riscos e benefícios devem ser discutidos com cada paciente antes de iniciar o tratamento. Até que dados adicionais apoiem sua segurança e eficácia, a pioglitazona não deve ser usada para tratar DHGNA sem EHNA comprovada por biópsia[4]. Os efeitos colaterais da glitazonas são motivo de preocupação: ganho ponderal, fraturas ósseas no sexo feminino e, raramente, insuficiência cardíaca congestiva. Apesar do perfil de segurança e tolerabilidade, a

pioglitazona pode ser utilizada em doentes selecionados com EHNA, particularmente na DM2 na qual o fármaco tem utilização aprovada[5].

O papel dos agonistas do peptídeo 1 do tipo glucagon (GLP-1) como agentes terapêuticos em pacientes com DHGNA e EHNA ainda não está bem estabelecido. É prematuro considerar os agonistas do GLP-1, como a liraglutida, para tratar especificamente a doença hepática em pacientes com DHGNA ou EHNA[4].

O estresse oxidativo é considerado um mecanismo chave de lesão hepatocelular e progressão da doença em indivíduos com EHNA. A vitamina E é um antioxidante e tem sido investigada como um dos tratamentos para a EHNA. A vitamina E administrada em uma dose diária de 800 UI /dia melhora a histologia hepática em adultos não diabéticos com EHNA comprovada por biópsia hepática e, portanto, pode ser considerada para essa população de pacientes. A vitamina E não é recomendada no tratamento da EHNA em pacientes diabéticos, na DHGNA sem biópsia hepática, cirrose por EHNA ou cirrose criptogênica[4]. Existem preocupações sobre a segurança a longo prazo da vitamina E[5].

Uma metanálise sugeriu que doses superiores a 800 UI /dia estavam associadas ao aumento da mortalidade por todas as causas[92]. No entanto, essa metanálise foi criticada por conter vieses de seleção, pois vários estudos com baixa mortalidade foram excluídos, e possíveis vieses de confusão, como a administração concomitante de outras drogas, como a vitamina A e o tabagismo. No entanto, outra metanálise realizada posteriormente, avaliando 57 estudos, não demonstrou efeito na mortalidade por todas as causas com doses de vitamina E de até 5.500 UI /dia[93]. Além disto, alguns estudos associaram o uso da vitamina E à ocorrência de acidente vascular cerebral hemorrágico[94] e carcinoma da próstata nos homens com mais de 50 anos de idade[5,95].

O ácido ursodeoxicólico não é recomendado para o tratamento da DHGNA ou EHNA. Os ácidos graxos ômega-3 não devem ser usados como tratamento específico da DHGNA ou EHNA, mas podem ser considerados para tratar a hipertrigliceridemia em pacientes com DHGNA[4].

O ácido obeticólico, um agonista sintético do recetor farnesoide X, apresentou resultados positivos em ensaio clínico randomizado de fase III, REGENERATE, em pacientes com EHNA. Neste estudo, os pacientes tratados com ácido obeticólico 25 mg por 18 meses, obtiveram uma melhora significativa na fibrose e nos principais componentes da atividade da doença na EHNA[96]. Além de melhorar as principais características histológicas[97], foi observada redução significativa nos parâmetros laboratoriais, incluindo normalização da ALT

e AST. Consistente com estudos clínicos anteriores com ácido obetiquólico, prurido e aumento do colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL- *Low Density Lipoprotein*) foram os eventos adversos mais comumente relatados[96].

As estatinas podem ser seguramente utilizadas para reduzir o colesterol LDL e prevenir o risco cardiovascular, não trazendo qualquer benefício ou risco para a doença hepática[5].

Nos doentes que não respondem às alterações do estilo de vida e à farmacoterapia, a cirurgia bariátrica é uma opção para perda ponderal e complicações metabólicas, com resultados estáveis a longo prazo[10]. O impacto da cirurgia bariátrica no curso da DHGNA em indivíduos obesos tem sido amplamente estudado. A cirurgia desempenha um papel significativo na história natural da DHGNA e geralmente leva a mudanças rápidas em sua evolução. Diferentes métodos cirúrgicos atuam nesse contexto por meio de uma variedade de mecanismos que, a longo prazo, podem estar diretamente associados à perda de peso alcançada, mas, a curto e médio prazo, parecem estar mais relacionados a alterações estruturais e endócrinas agudas atribuídas aos procedimentos[11].

A cirurgia bariátrica promove alterações em três áreas metabólicas cruciais que influenciam a DHGNA: melhora do controle glicêmico, melhora do metabolismo lipídico e diminuição da atividade inflamatória. Esses efeitos são seguidos por efeitos significativos na histologia hepática em pacientes com DHGNA e EHNA[12].

Uma série de trabalhos[6,10,11,12] indica que a cirurgia bariátrica é eficaz na melhoria das lesões hepáticas associadas a DHNA, inclusive na necroinflamação e fibrose. Em estudo de coorte publicado em 2015, a cirurgia bariátrica induziu o desaparecimento da EHNA em 85% dos pacientes e melhorou a fibrose em 34%, após um ano de acompanhamento. Esta melhora foi acompanhada por um impacto significativo na perda de peso, melhora na bioquímica hepática e resistência à insulina[10].

Embora existam dados extensos de estudos controlados randomizados comparando cirurgia metabólica versus tratamento medicamentoso para DM2, são insuficientes os dados de ensaios clínicos randomizados mostrando os benefícios da cirurgia metabólica sobre a EHNA, não sendo possível considerar a EHNA uma única indicação para cirurgia metabólica, independentemente do IMC, neste momento[98]. A cirurgia bariátrica pode ser considerada em indivíduos obesos elegíveis com DHGNA ou EHNA, porém, diretrizes atuais afirmam ser prematuro considerar a cirurgia bariátrica como uma opção estabelecida para tratar especificamente a EHNA[4].

A declaração do consenso da Federação Internacional de Cirurgia da Obesidade e Distúrbios Metabólicos (IFSO), afirma que a cirurgia bariátrica leva à reversão ou melhora significativa da DHGNA e EHNA. Entretanto, como a grande maioria dos estudos que levaram a essa conclusão foram estudos de coorte não randomizados, não controlados e observacionais, este postulado constitui uma recomendação de grau B, com nível de evidência 2. O IFSO também conclui que, apesar das evidências sólidas disponíveis até o momento, mais pesquisas, especialmente em ambientes controlados e randomizados, são necessárias para se chegar a conclusões definitivas. A alta prevalência de DHGNA na população bariátrica também precisa ser considerada como um fator significativo. Portanto, levando em consideração o impacto geral da cirurgia bariátrica na obesidade e nas comorbidades relacionadas à obesidade, como a DHGNA, essa opção de tratamento deve ser oferecida ao grupo de indivíduos que preenche os critérios atuais de indicação, como uma terapia eficaz[11, 99,100].

A DHGNA é cada vez mais prevalente e representa um desafio crescente em termos de prevenção e tratamento. O seguimento dos pacientes com DHNA deve considerar o risco de progressão da doença hepática e das patologias metabólicas subjacentes. A vigilância deve incluir bioquímica de rotina, avaliação das comorbilidades e avaliação não invasiva da fibrose. Os doentes com ES sem agravamento dos fatores de risco metabólicos devem ser avaliados em intervalos de 2–3 anos. Os doentes com EHNA e/ ou fibrose devem ser avaliados anualmente, e aqueles com cirrose associada a EHNA devem ser avaliados em intervalos de 6 meses. A nível individual poderá repetir-se a biópsia hepática após 5 anos[5].

2.2. METABOLISMO DO FERRO

O ferro é o metal mais abundante no organismo humano e tem papel fundamental na homeostase energética sistêmica[17]. O ferro é importante na formação da hemoglobina e de diversos elementos essenciais como a mioglobina e citocromos. A quantidade total de ferro no organismo é em média de 4 a 5 gramas; destes, 65% estão na forma de hemoglobina, 15% a 30% estão armazenados no fígado e no sistema reticuloendotelial, 4% estão na forma de mioglobina, 1% na forma de compostos heme e 0,1% está combinado com a proteína transferrina no plasma sanguíneo. A maior parte do ferro para as necessidades fisiológicas diárias é reciclada dos eritrócitos senescentes e apenas cerca de 1% é obtido por absorção intestinal[17, 101].

No que se refere ao metabolismo do ferro, após ser absorvido pelo intestino delgado, se combina imediatamente, no plasma sanguíneo, com a beta globulina apotransferrina para formar a transferrina, que será transportada pelo plasma. O ferro possui uma ligação frouxa com a transferrina, podendo ser liberado para qualquer célula do organismo onde seja necessário. O excesso de ferro sanguíneo é depositado no fígado, e em menor quantidade, nas células reticuloendoteliais da medula óssea. No citoplasma das células, o ferro se combina com a proteína apoferritina, formando a ferritina, que é conhecida como o ferro de depósito. Pequenas quantidades de ferro de depósito são armazenadas sob a forma de hemossiderina, e ocorrem quando a quantidade total de ferro no organismo é superior à que pode ser armazenada no reservatório de depósito da apoferritina. Quando a quantidade de ferro plasmático diminui, os depósitos de ferritina são mobilizados e transportados sob a forma de transferrina pelo plasma para as áreas do corpo onde são necessárias[101].

Durante o processo denominado metabolismo do heme, a transferrina, juntamente com o ferro ligado, sofre o processo de endocitose, sendo fagocitada pelo eritroblasto. Nos eritroblastos, a tranferrina libera o ferro para as mitocôndrias, onde ocorre a sintetização do heme. Quando as hemácias completam seu tempo de vida, de aproximadamente 120 dias, são destruídas liberando hemoglobina e ferro. A hemoglobina é fagocitada pelo sistema de monócitos-macrófagos e o ferro, em sua maior parte, é armazenado no reservatório de ferritina, para ser utilizado futuramente na formação de nova molécula de hemoglobina[101].

A absorção de ferro é rigorosamente regulada, a fim de reduzir o risco de efeitos adversos da formação não enzimática de radicais livres por sais de ferro. O ferro inorgânico é transportado para a célula da mucosa intestinal e se acumula intracelularmente pela sua ligação à ferritina. O ferro deixa a célula da mucosa por meio de uma proteína transportadora, a ferroportina, mas apenas na presença de transferrina livre no plasma para a sua ligação. Quando a transferrina está saturada com ferro, qualquer molécula de ferro que tenha se acumulado nas células da mucosa é perdida com a descamação celular. A expressão do gene da ferroportina é modulada negativamente pela hepcidina, um peptídeo secretado pelo fígado quando as reservas corporais de ferro estão adequadas. Em resposta à hipoxia, à anemia ou à hemorragia, ocorre redução na síntese de hepcidina, resultando em aumento da síntese de ferroportina e absorção aumentada de ferro. Em consequência dessa barreira mucosa, somente em torno de 10% do ferro da dieta é absorvido[102]. A excreção diária de ferro é de cerca de 0,6 mg, e ocorre principalmente pelas fezes. Quantidades adicionais de ferro são perdidas durante

hemorragias. Para a mulher, a perda adicional de ferro pela menstruação pode chegar em média a 1,3 mg/dia[101].

Atualmente, a ferritina é uma das proteínas mais estudadas, provavelmente a segunda mais estudada após a hemoglobina, sendo a FS um importante marcador clínico de inflamação, infecção e malignidade[103]. Excetuando-se o ferro da hemoglobina sanguínea, a maior proporção de ferro no organismo é armazenada no fígado sob a forma de ferritina[101]. Em geral, o organismo humano pode armazenar até 1 g de ferro, a maior parte ligada à ferritina. A ferritina (peso molecular de 440 kDa) é composta por 24 subunidades idênticas, que envolvem até 3.000 a 4.500 átomos férricos. Em condições normais, existe pequena quantidade de ferritina no plasma humano (50 a 200 mg/dL) proporcional as reservas totais de ferro do organismo. Portanto, os níveis plasmáticos de ferritina são considerados um indicador das reservas corporais de ferro[102].

2.3. SOBRECARGA DE FERRO NA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCÓOLICA

A sobrecarga de ferro é frequente na doença hepática crônica, independentemente da etiologia, sendo observada em 10 a 30 % dos pacientes[104]. A elevação das concentrações de FS são a marca bioquímica dos parâmetros de ferro em indivíduos com DHGNA[17,105]. A FS é dosada rotineiramente em pacientes com DHGNA, como parte da investigação laboratorial para descartar outras causas de doença hepática[14]. Os níveis de ferritina são frequentemente elevados em pacientes com DHGNA, acometendo entre 20% a 40% dos pacientes[15,16].

Para determinar se um paciente tem ferro aumentado, deve-se realizar uma dosagem do ferro sérico, da capacidade total de ligação do ferro e da ferritina. Pacientes com sobrecarga de ferro apresentam aumento da saturação de transferrina, que é calculada pelo ferro sérico dividido pela capacidade total de ligação do ferro. A saturação normal é inferior a 40%. Um nível elevado de ferritina e/ou saturação de transferrina deve levar à suspeita de sobrecarga de ferro. No entanto, existem vários pontos a serem considerados[106]. A ferritina é uma proteína de fase aguda que aumenta na presença de inflamação sistêmica, comumente relacionada à obesidade, DM2 e SM[29]. Portanto, um alto nível de ferritina nem sempre significa que há sobrecarga de ferro. Da mesma forma, como a saturação da transferrina é uma razão, se o denominador (capacidade total de ligação do ferro) for reduzida, a saturação pode ser falsamente elevada, sugerindo erroneamente a sobrecarga de ferro[106].

Na DHGNA, os níveis elevados de FS são comuns na presença de saturação de transferrina variável, a despeito dos polimorfismos genéticos da hemocromatose familiar[5,107]. No entanto, se a FS e a saturação de transferrina estiverem elevadas em um paciente com suspeita de DHGNA, hemocromatose genética deve ser excluída através da pesquisa de mutações no gene HFE[4].

É clinicamente relevante para fazer uma distinção entre hiperferritinemia dismetabólica (DHF) e sobrecarga de ferro dismetabólica (DIOS). DHF refere-se à observação de concentrações elevadas de FS, sem evidência de excesso de ferro, conforme avaliado por RM ponderada em T2 ou biópsia hepática. A hiperferritinemia pode refletir amplamente nos estímulos inflamatórios e no estresse oxidativo nesses indivíduos. Ao contrário, DIOS se refere a indivíduos com DHGNA, com elevados estoques de ferro diagnosticados por um desses métodos. A quantidade real de carga de ferro corporal pode ter consequências em relação a indicação dos tratamentos, uma vez que o uso do tratamento com flebotomia em indivíduos com DHF ou mesmo indivíduos com ferritina normal pode não ter nenhum benefício clínico[17].

A presença e o padrão de deposição de ferro hepático estão associados a características histológicas mais severas em pacientes com DHGNA, incluindo fibrose[108]. A deposição de ferro hepático em pacientes com DHGNA pode ser hepatocelular, reticuloendotelial ou ambos[54]. No entanto, a FS elevada na DHGNA não indica necessariamente sobrecarga hepática de ferro, embora possa afetar a progressão da doença[4,15]. A compreensão da interseção entre o metabolismo anormal do ferro e a DHGNA é complexa, já que muitos pacientes com DHGNA têm níveis aumentados de FS na ausência de aumento dos estoques hepáticos de ferro ou aumento da prevalência de mutações HFE[15]. Em uma recente revisão da literatura, a elevação da FS, notadamente na EHNA, foi associada com maior frequência à agressão hepatocelular do que com a sobrecarga de ferro hepático[109].

A biópsia hepática é capaz de determinar a presença ou extensão do acúmulo hepático de ferro, e de excluir lesão hepática significativa em um paciente com suspeita de DHGNA[4]. Além da biópsia, atualmente existem vários testes alternativos que utilizam tecnologia de imagem por RM. Pode-se realizar uma RM ponderada em T2 ou um FerriScan, que utiliza as propriedades paramagnéticas do ferro no fígado, para detectar níveis aumentados[106].

O ferro tem sido amplamente envolvido na patogênese da DHGNA e representa um alvo potencial para tratamento[105]. É importante conhecer os mecanismos subjacentes pelos quais o excesso de ferro pode facilitar as respostas fibróticas[104]. Numerosos mecanismos

foram demonstrados em modelos de cultura de células e animais. No entanto, os dados em humanos que ligam o ferro hepático à lesão hepática na DHGNA não são tão claros, com evidências aparentemente conflitantes, que relacionam um efeito do ferro nos hepatócitos ou nas células reticuloendoteliais[105].

O tecido adiposo emergiu como um ponto chave no qual o ferro pode ter um papel patogênico na DHGNA. As evidências vêm indiretamente de estudos que avaliaram o papel do ferro no tecido adiposo, com relação à resistência à insulina. Os níveis de FS refletiram níveis mais baixos de adiponectina sérica, um marcador de resistência à insulina e gordura hepática, em um estudo prospectivo que comparou pacientes com DHGNA confirmada por biópsia com controles sadios[22]. Além do mais, diversas evidências apoiam um efeito da própria DHGNA no metabolismo do ferro[105,22].

O estresse oxidativo é um dos principais mecanismos patogênicos de lesão hepática na EHNA[73]. O excesso de ferro é capaz de gerar quantidades inextinguíveis de radicais livres, causando graves danos celulares e teciduais que contribuem para a fibrose. Quantidades elevadas de ferro podem induzir sinais promotores de fibrose nas células parenquimatosas e não parenquimatosas, o que acelera a progressão da doença e exacerba a patologia hepática[104,110].

Não está claro se a hiperferritinemia é simplesmente uma consequência da gravidade da DHGNA ou contribui ativamente para a progressão da doença[14,15,17]. A ferritina pode estar intimamente envolvida em muitos processos importantes relacionados à patogênese da EHNA, incluindo inflamação, apoptose, estresse oxidativo, resistência insulínica, transporte lipídico e fibrogênese[15,111,112]. Vários estudos in vitro e in vivo em hepatócitos e tecido hepático sugerem que estímulos inflamatórios, particularmente as citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF-a) e interleucina-1β, e o estresse oxidativo regulam positivamente a ferritina. Portanto, é plausível que a FS possa refletir o aumento da gravidade da doença, devido ao aumento da inflamação hepática ou sistêmica em curso na DHGNA[15,89,104].

O estudo de Ruddell et al foi o primeiro a fornecer fortes evidências de que a FS exibe atividade independente de ferro, semelhante a ação das citocinas na ativação das células estreladas hepáticas. Através da via de sinalização do fator nuclear potencializador de cadeias leves kappa de células B (NFκB), a ferritina induz uma cascata de sinalização que regula positivamente a expressão de mediadores pró-inflamatórios associados à fibrogênese hepática[113].

A hepcidina é o principal regulador da homeostase sistêmica do ferro, secretada pelos hepatócitos em resposta à anemia, inflamação e hipóxia[101]. No entanto, o papel da hepcidina na patogênese da DHGNA é controverso. As razões para esses resultados inconsistentes não são claras, mas podem estar relacionadas à seleção dos pacientes, desenho dos estudos ou a fatores concomitantes que podem influenciar os níveis de FS e hepcidina. Enquanto alguns estudos não encontraram relação entre hepcidina sérica e DHGNA[114], outros afiram que a hepcidina sérica e o ferro hepático são os preditores mais fortes dos níveis de FS, sugerindo inclusive que terapias destinadas a corrigir o metabolismo do ferro poderiam ser benéficas no tratamento da DHGNA[22].

O benefício da terapia de remoção de ferro é firmemente estabelecido nas doenças genéticas de sobrecarga de ferro. A evidência de um benefício clínico da redução do ferro na resistência insulínica associada à obesidade e DHGNA é muito mais controverso[17]. Estudos com resultados conflitantes avaliaram os efeitos da flebotomia para eliminar o excesso de ferro na DHGNA. Em um estudo que realizou um programa de flebotomias para reduzir as reservas de ferro até níveis de quase deficiência, houve melhora da pontuação do escore NAS, sem agravamento da fibrose[115]. Entretanto, em uma revisão sistemática e meta-análise recente, a flebotomia não demonstrou melhora significativa nos índices de resistência à insulina, enzimas hepáticas ou histologia hepática em pacientes com DHGNA em comparação às mudanças no estilo de vida isoladamente, concluindo que as evidências atuais não suportam o uso de flebotomia para o tratamento destes pacientes[116].

Estudos anteriores que examinaram a relação entre o nível de FS e a gravidade histológica na DHGNA encontraram resultados conflitantes, com alguns pesquisadores relatando que os níveis de FS estão associados ao aumento da gravidade histológica e da presença de EHNA e fibrose[15,16,18,19,20,21,22,23,24,25,26], enquanto outros não observaram esta associação[9,14,27,28]. Analisando estes estudos, a FS foi proposta como um marcador de EHNA e fibrose hepática e foi incorporada em painéis para avaliação da fibrose hepática[29,30,31]. Mais recentemente, a FS foi proposta como um preditor independente de mortalidade a longo prazo na DHGNA[16]. Um estudo de coorte com 286 pacientes, demonstrou que a FS é um preditor de mortalidade em pacientes com doença hepática terminal. Níveis elevados de FS e níveis baixos de transferrina sérica foram associados significativamente com o aumento da mortalidade em 90 dias, semelhante ao modelo para doença hepática em estágio terminal[117].

O impacto dos níveis de FS na mortalidade de pacientes com DHGNA foi evidenciado por Hagström et al, em estudo com 222 pacientes acompanhados durante um tempo médio de

15,6 anos. Pacientes com FS alta apresentaram fibrose mais avançada e escore NAS mais altos do que pacientes com FS normal (P <0,05). Após o ajuste para fatores de confusão, o grupo com FS alta mostrou uma mortalidade cada vez mais elevada, que foi estatisticamente significativa, associando a FS ao risco aumentado de morte a longo prazo[16].

Manousou et al, avaliaram a FS e as características da síndrome metabólica em relação à histologia, inflamação e/ou fibrose, em 111 pacientes com DHGNA. A regressão multivariada mostrou que DM, FS, IMC e AST foram independentemente associados com EHNA, e juntos, a AUROC foi de 0,91. A fibrose foi associada à FS e IMC, inflamação portal com FS e DM, enquanto a inflamação lobular foi associada a IMC, DM e FS. Usando a combinação de um ponto de corte de FS de 240 ng /ml ou mais e um IMC maior que 28.2, foi possível identificar pacientes em risco de fibrose com uma sensibilidade de 82% e uma especificidade de 79%. Tanto a ferritina quanto o IMC foram apontados como potenciais marcadores discriminantes para selecionar pacientes com DHGNA para biópsia hepática[18].

O estudo de Kowdley et al analisou uma amostra de 628 pacientes adultos com DHGNA, do banco de dados Nacional de Pesquisa Clínica em Esteato-Hepatite Não Alcoólica (NASH CRN) dos EUA. A FS superior a 1,5 vezes o limite superior da normalidade (LSN) estava associada à deposição hepática de ferro, diagnóstico de EHNA e pior atividade histológica, sendo considerada um fator preditor independente de fibrose hepática avançada entre pacientes com DHGNA. Além disso, FS elevada foi independentemente associada a um escore NAS mais alto, mesmo entre pacientes sem deposição de ferro hepático. O estudo concluiu que a FS é útil para identificar pacientes com DHGNA em risco de EHNA e fibrose avançada, e deveria ser incluída na análise laboratorial dos pacientes com DHGNA[15].

Em trabalho publicado por Angulo et al, foram avaliados 1.044 pacientes com DHGNA confirmada por biópsia. Ao estabelecer três pontos de corte de FS, 1,0, 1,5 e 2,0 vezes o LSN, foram criados três modelos de regressão logística múltipla para determinar a associação desses valores de corte com fibrose hepática, ajustando-se para idade, sexo, raça, DM, IMC e níveis de ALT. Em todos os modelos, o nível sérico de ferritina foi significativamente associado ao diagnóstico de EHNA e à presença e gravidade da fibrose hepática. No entanto, para todos os 3 valores de corte, os valores de AUROC foram baixos (menos de 0,60) para a presença de fibrose ou qualquer estágio de fibrose hepática. A FS identificou pacientes com fibrose com sensibilidade de 16% a 41% e especificidade de 70% a 92%. A precisão com que os sistemas de pontuação não invasivos identificaram os pacientes

com fibrose avançada não mudou com a inclusão dos valores de ferritina sérica. A conclusão foi de que embora os níveis de FS se correlacionassem com a fibrose hepática mais grave, os níveis de FS por si só apresentam um baixo nível de precisão diagnóstica para a presença ou gravidade da fibrose hepática em pacientes com DHGNA[14].

Goh GB et al, demostraram uma relação positiva da FS com a presença de EHNA, em um grupo de 405 pacientes com DHGNA confirmada por biópsia hepática. A FS foi significativamente maior no grupo com EHNA em comparação com os pacientes sem EHNA (P <0,001), mas não possuía precisão diagnóstica para prever a EHNA sozinha (AUROC 0,62). A adição de outras variáveis significativas como AST, IMC, contagem de plaquetas, DM e HAS à ferritina melhorou a predição da EHNA com uma AUROC de 0,81, e deu origem ao escore preditivo de EHNA (*NASH predictive score- NPS*). Os resultados confirmam também a evidência de precisão diagnóstica limitada da FS isoladamente para diagnosticar fibrose avançada. Os autores sugerem que o estudo representa uma nova pontuação composta, usando variáveis clínicas facilmente obtidas para rastrear a EHNA, mas que necessita ser validado em outras coortes de pacientes com DHGNA[9].

Em estudo de caso controle com 113 indivíduos, incluindo três grupos, dois com DHGNA com e sem fibrose, e um controle sem DHGNA, níveis significativamente mais elevados de FS foram encontrados em pacientes com fibrose e DHGNA, do que nos controles.. A análise da curva AUROC revelou que um nível de corte ideal de 51,95 ng/mL foi o melhor para prever a fibrose na DHGNA, com sensibilidade e especificidade diagnóstica de 65% e 60%, respectivamente, e AUROC de 0,658. O estudo considerou a FS um preditor de fibrose na DHGNA, com sensibilidade e especificidade moderadas[26].

Buzzeti et al analisaram 468 pacientes com DHGNA comprovada por biópsia hepática de dois centros europeus. Parâmetros de ferro, hepáticos e metabólicos foram coletados no momento da biópsia. Um total de 122 (26%) pacientes tinham hiperferritinemia, enquanto sobrecarga de ferro hepático foi encontrada em 116 (25%). Indivíduos com sobrecarga de ferro hepático apresentaram ferritina e transaminases séricas mais altas. Na análise multivariada, o IMC, presença DM, níveis de ALT e um padrão misto de deposição hepática de ferro foram independentemente associados à presença de EHNA. A FS foi associada ao aumento do grau de esteatose, mas não à presença de EHNA, e aumentou com o agravamento do estágio de fibrose (F3 em comparação com F0 - F1), diminuindo significativamente no estágio F4. O estudo sugeriu que em pacientes com DHGNA, a FS possa ser avaliada como parte de painéis de diagnóstico não invasivos, mas não isoladamente[19].

Em coorte de 1201 pacientes com biópsia hepática, inscritos no grupo de estudo japonês sobre DHGNA, a FS aumentou com o avanço do grau histológico de esteatose, inflamação lobular e balonização. As análises multivariadas revelaram que diferenças sexuais, grau de esteatose e estágio de fibrose foram independentemente associados com os níveis de FS (P <0,0001, <0,0001, 0,0248, respectivamente). No entanto, as análises estatísticas sobre a FS demonstraram que a AUROC para detectar fibrose severa ou avançada não apresentaram uma precisão adequada (menor que 0,60). O estudo constatou que a FS possa ter baixa acurácia diagnóstica para detectar especificamente fibrose hepática em pacientes com DHGNA devido ao envolvimento de múltiplos processos hepatocelulares, já que é afetada pelo sexo e pelos diferentes graus histológicos. O estudo sugere cautela no uso da FS como biomarcador na DHGNA[25].

Em estudo com 40 pacientes DM2 com DHGNA e 40 pacientes DM2 sem DHGNA, comparando dados com 15 indivíduos saudáveis como grupo controle, o nível de FS foi maior em pacientes com DHGNA do que nos pacientes sem DHGNA, com uma associação significativa entre a FS e o grau histológico no grupo DHGNA. Houve uma correlação altamente significativa entre a FS com peso corporal, IMC, duração do DM2, colesterol total (CT), triglicerídeos, LDL e microalbuminúria. Este estudo sugeriu que a microalbuminúria e a FS devem ser avaliadas nos casos de DHGNA, especialmente com estágios avançados e que estes devem ser seguidos mais rigorosamente[20]. Entretanto, os níveis de acurácia da FS não foram avaliados, e não foram disponibilizados dados sobre análise multivariada, a fim de identificar se as variáveis estavam independentemente associadas a DHGNA.

Em revisão da literatura publicada em 2017, os autores observaram diferentes critérios e métodos de seleção entre os 11 artigos incluídos no estudo, o que dificultou a comparação dos resultados. A revisão observou que a FS é um potencial preditor independente de inflamação e fibrose hepática, e pode contribuir para a decisão de se realizar uma biópsia hepática em indivíduos com diagnóstico clínico de DHGNA. Mostrou igualmente que as alterações metabólicas como hiperinsulinemia, disglicemia, dislipidemia e resistência à insulina agravam o quadro clínico e a progressão da DHGNA. Em conclusão, a hiperferritinemia em pacientes com DHGNA/ EHNA se associou com maior frequência à agressão hepatocelular do que com sobrecarga de ferro hepático. Os resultados recomendaram um maior cuidado na interpretação da elevação da FS em pacientes com DHGNA/EHNA para o estabelecimento de condutas clínicas apropriadas[69].

Em metanálise de 14 estudos publicada no mesmo ano, foi concluído que a FS elevada pode estar associada à gravidade da DHGNA, uma vez que os controles mostraram uma FS menor em comparação aos pacientes com esteatose ou EHNA e os pacientes com esteatose apresentaram uma FS menor em comparação aos pacientes com EHNA. Como tal, A FS foi sugerida como um marcador biológico menos invasivo e eficaz para prever a progressão da DHGNA. Esses resultados foram consistentes com a hipótese de que a FS elevada estaria relacionada à resistência insulínica e danos aos hepatócitos, além de desempenhar um papel fibrótico e pró-inflamatório durante a progressão da doença[110].

3. JUSTIFICATIVA

A DHGNA vêm se tornando um desafio na saúde pública, à medida que a prevalência da obesidade e sobrepeso vem aumentando em níveis endêmicos nos últimos anos[3,43]. O desenvolvimento de modalidades não-invasivas precisas, seguras e facilmente acessíveis para diagnosticar e monitorar com precisão a EHNA e a fibrose é de extrema importância na prática e na pesquisa clínica. Assim, marcadores biológicos acessíveis e não-invasivos que possam ser úteis no diagnóstico e prognóstico da DHGNA têm sido largamente estudados. Esses testes são importantes não apenas para estratificar os pacientes com maior risco de doença hepática progressiva, mas também para controlar a reposta ao tratamento e servir como desfecho substituto apropriado para ensaios clínicos sobre DHGNA[36].

A EHNA é uma forma avançada e agressiva de DHGNA, de difícil diagnóstico sem a realização de uma biópsia hepática. Uma série de estudos tem associado níveis séricos aumentados de ferritina à EHNA e fibrose hepática em pacientes com DHGNA. No entanto, não há consenso se as concentrações aumentadas de ferritina estão associadas a uma pior atividade da EHNA e a graus mais avançados de fibrose hepática nestes pacientes.

Portanto, frente às limitações atuais das modalidades não-invasivas na avalição da DHGNA, a análise dos níveis séricos de ferritina poderia ser utilizada como um recurso acessível e amplamente disponível para auxiliar na identificação dos pacientes com DHGNA com maior risco de apresentar EHNA e fibrose, auxiliando na abordagem terapêutica desses pacientes.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Estudar a relação entre os níveis de ferritina sérica e os achados clínicos, antropométricos, laboratoriais e histológicos em pacientes adultos, portadores de obesidade, em acompanhamento no Centro de Tratamento da Obesidade do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a relação entre hiperferritinemia e esteatose, EHNA e fibrose hepática.

Avaliar o papel da ferritina sérica como um marcador biológico potencialmente eficaz e menos invasivo em pacientes com DHGNA.

Avaliar as diferenças entre pacientes com e sem hiperferritinemia, estabelecendo variáveis consideradas preditoras independentes de EHNA.

Avaliar os níveis séricos de ferritina um ano após a realização da cirurgia bariátrica.

5. REFERÊNCIAS

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. Hepatology. 2016 Jul;64(1):73-84. doi: 10.1002/hep.28431. Epub 2016 Feb 22. PMID: 26707365.
2. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2018 Jan;15(1):11-20. doi: 10.1038/nrgastro.2017.109. Epub 2017 Sep 20. PMID: 28930295.
3. Marchesini G, Mazzotti A. NAFLD incidence and remission: only a matter of weight gain and weight loss? J Hepatol. 2015 Jan;62(1):15-7. doi: 10.1016/j.jhep.2014.10.023. Epub 2014 Oct 22. PMID: 25450705.
4. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology. 2018 Jan;67(1):328-357. doi: 10.1002/hep.29367. Epub 2017 Sep 29. PMID: 28714183.
5. European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2016 Jun;64(6):1388-402. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.004. Epub 2016 Apr 7. PMID: 27062661.
6. Sasaki A, Nitta H, Otsuka K, Umemura A, Baba S, Obuchi T, Wakabayashi G. Bariatric surgery and non-alcoholic Fatty liver disease: current and potential future treatments. Front Endocrinol (Lausanne). 2014 Oct 27;5:164. doi: 10.3389/fendo.2014.00164. PMID: 25386164; PMCID: PMC4209858.
7. Younossi Z, Henry L. Contribution of Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease to the Burden of Liver-Related Morbidity and Mortality. Gastroenterology. 2016 Jun;150(8):1778-85. doi: 10.1053/j.gastro.2016.03.005. Epub 2016 Mar 12. PMID: 26980624.
8. Younossi ZM, Loomba R, Anstee QM, Rinella ME, Bugianesi E, Marchesini G, et al. Diagnostic modalities for nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis,

and associated fibrosis. Hepatology. 2018 Jul;68(1):349-360. doi: 10.1002/hep.29721. PMID: 29222917; PMCID: PMC6511364.

9. Goh GB, Issa D, Lopez R, Dasarathy S, Dasarathy J, Sargent R, et al. The development of a non-invasive model to predict the presence of non-alcoholic steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol Hepatol. 2016 May;31(5):995-1000. doi: 10.1111/jgh.13235. PMID: 26589761.
10. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J, et al. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. Gastroenterology. 2015 Aug;149(2):379-88; quiz e15-6. doi: 10.1053/j.gastro.2015.04.014. Epub 2015 Apr 25. PMID: 25917783.
11. Cazzo E, Pareja JC, Chaim EA. Nonalcoholic fatty liver disease and bariatric surgery: a comprehensive review. Sao Paulo Med J. 2017 May-Jun;135(3):277-295. doi: 10.1590/1516-3180.2016.0306311216. Epub 2017 May 29. PMID: 28562737.
12. Laursen TL, Hagemann CA, Wei C, Kazankov K, Thomsen KL, Knop FK, et al. Bariatric surgery in patients with non-alcoholic fatty liver disease - from pathophysiology to clinical effects. World J Hepatol. 2019 Feb 27;11(2):138-149. doi: 10.4254/wjh.v11.i2.138. PMID: 30820265; PMCID: PMC6393715.
13. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål 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 May;61(5):1547-54. doi: 10.1002/hep.27368. Epub 2015 Mar 23. PMID: 25125077.
14. Angulo P, George J, Day CP, Vanni E, Russell L, De la Cruz AC, et al. Serum ferritin levels lack diagnostic accuracy for liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Clin Gastroenterol Hepatol. 2014 Jul;12(7):1163-1169.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2013.11.035. Epub 2013 Dec 14. PMID: 24342745; PMCID: PMC4057997
15. Kowdley KV, Belt P, Wilson LA, Yeh MM, Neuschwander-Tetri BA, Chalasani N, et al; NASH Clinical Research Network. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2012 Jan;55(1):77-85. doi: 10.1002/hep.24706. Epub 2011 Dec 6. PMID: 21953442; PMCID: PMC3245347.
16. Hagström H, Nasr P, Bottai M, Ekstedt M, Kechagias S, Hultcrantz R, et al. Elevated serum ferritin is associated with increased mortality in non-alcoholic fatty liver disease

after 16 years of follow-up. Liver Int. 2016 Nov;36(11):1688-1695. doi: 10.1111/liv.13144. Epub 2016 Apr 28. PMID: 27064133.

17. Datz C, Müller E, Aigner E. Iron overload and non-alcoholic fatty liver disease. Minerva Endocrinol. 2017 Jun;42(2):173-183. doi: 10.23736/S0391-1977.16.02565-7. Epub 2016 Nov 11. PMID: 27834478.
18. Manousou P, Kalambokis G, Grillo F, Watkins J, Xirouchakis E, Pleguezuelo M, et al. Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. Liver Int. 2011 May;31(5):730-9. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02488.x. Epub 2011 Mar 6. PMID: 21457446.
19. Buzzetti E, Petta S, Manuguerra R, Luong TV, Cabibi D, Corradini E, et al. Evaluating the association of serum ferritin and hepatic iron with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease. Liver Int. 2019 Jul;39(7):1325-1334. doi: 10.1111/liv.14096. Epub 2019 Mar 27. PMID: 30851216.
20. Amin RF, El Bendary AS, Ezzat SE, Mohamed WS. Serum Ferritin level, microalbuminuria and non-alcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients. Diabetes Metab Syndr. 2019 May-Jun;13(3):2226-2229. doi: 10.1016/j.dsx.2019.05.030. Epub 2019 May 25. PMID: 31235161.
21. Parikh P, Patel J, Ingle M, Sawant P. Serum ferritin levels predict histological severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease in India. Indian J Gastroenterol. 2015 May;34(3):200-8. doi: 10.1007/s12664-015-0572-5. Epub 2015 Jun 25. PMID: 26108652.
22. Ryan JD, Armitage AE, Cobbold JF, Banerjee R, Borsani O, Dongiovanni P, et al. Hepatic iron is the major determinant of serum ferritin in NAFLD patients. Liver Int. 2018 Jan;38(1):164-173. doi: 10.1111/liv.13513. Epub 2017 Jul 29. PMID: 28679028.
23. You G, Ding J, Shen J, Wang Y, Sun Y. Association between serum ferritin and non-alcoholic fatty liver disease among middle-aged and elderly Chinese with normal weight. Asia Pac J Clin Nutr. 2019;28(4):747-753. doi: 10.6133/apjcn.201912_28(4).0011. PMID: 31826372.
24. Jeong DW, Lee HW, Cho YH, Yi DW, Lee SY, Son SM, et al. Comparison of serum ferritin and vitamin d in association with the severity of nonalcoholic Fatty liver disease in korean adults. Endocrinol Metab (Seoul). 2014 Dec 29;29(4):479-88. doi: 10.3803/EnM.2014.29.4.479. PMID: 25559574; PMCID: PMC4285033.

25. Yoneda M, Thomas E, Sumida Y, Imajo K, Eguchi Y, Hyogo H, et al. Clinical usage of serum ferritin to assess liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Proceed with caution. Hepatol Res. 2014 Dec;44(14):E499-502. doi: 10.1111/hepr.12327. Epub 2014 Apr 10. PMID: 24628717.
26. El Nakeeb N, Saleh SA, Massoud YM, Hussein A, Hamed R. Serum ferritin as a non-invasive marker in the prediction of hepatic fibrosis among Egyptian patients with non-alcoholic fatty liver disease. JGH Open. 2017 Nov 13;1(3):112-119. doi: 10.1002/jgh3.12019. PMID: 30483546; PMCID: PMC6207043.
27. Modares Mousavi SR, Geramizadeh B, Anushiravani A, Ejtehadi F, Anbardar MH, Moini M. Correlation between Serum Ferritin Level and Histopathological Disease Severity in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. Middle East J Dig Dis. 2018 Apr;10(2):90-95. doi: 10.15171/mejdd.2018.96. Epub 2018 Mar 12. PMID: 30013757; PMCID: PMC6040928..
28. Chandok N, Minuk G, Wengiel M, Uhanova J. Serum ferritin levels do not predict the stage of underlying non-alcoholic fatty liver disease. J Gastrointestin Liver Dis. 2012 Mar;21(1):53-8. PMID: 22457860.
29. Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. Hepatology. 2009 Oct;50(4):1072-8. doi: 10.1002/hep.23050. PMID: 19585618; PMCID: PMC2757511.
30. Hanafy AS, Seleem WM, El-Kalla F, AbdAlkhalik Basha M, Abd-Elsalam S. Efficacy of a non-invasive model in predicting the cardiovascular morbidity and histological severity in non-alcoholic fatty liver disease. Diabetes Metab Syndr. 2019 May-Jun;13(3):2272-2278. doi: 10.1016/j.dsx.2019.05.032. Epub 2019 May 29. PMID: 31235168.
31. Jiang Y, Zeng J, Chen B. Hemoglobin combined with triglyceride and ferritin in predicting non-alcoholic fatty liver. J Gastroenterol Hepatol. 2014;29(7):1508-14. doi: 10.1111/jgh.12580. PMID: 24628002.
32. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. J Hepatol. 2020 Jul;73(1):202-209. doi: 10.1016/j.jhep.2020.03.039. Epub 2020 Apr 8. PMID: 32278004.
33. Godoy-Matos AF, Silva Júnior WS, Valerio CM. NAFLD as a continuum: from obesity to metabolic syndrome and diabetes. Diabetol Metab Syndr. 2020 Jul 14;12:60. doi: 10.1186/s13098-020-00570-y. PMID: 32684985; PMCID: PMC7359287.

34. Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. J Hepatol. 2010 Aug;53(2):372-84. doi: 10.1016/j.jhep.2010.04.008. Epub 2010 May 7. PMID: 20494470.
35. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. Gastroenterology. 2015 Mar;148(3):547-55. doi: 10.1053/j.gastro.2014.11.039. Epub 2014 Nov 25. PMID: 25461851.
36. Marcellin P, Kutala BK. Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. Liver Int. 2018 Feb;38 Suppl 1:2-6. doi: 10.1111/liv.13682. PMID: 29427496.
37. World Obesity Facts. Obtained from the world wide web at: https://renew-bariatrics.com/obesity-rank-by-countries/.
38. Oni ET, Kalathiya R, Aneni EC, Martin SS, Blaha MJ, Feldman T, et al. Relation of physical activity to prevalence of nonalcoholic Fatty liver disease independent of cardiometabolic risk. Am J Cardiol. 2015 Jan 1;115(1):34-9. doi: 10.1016/j.amjcard.2014.09.044. Epub 2014 Oct 12. PMID: 25456868.
39. Karnikowski M, Córdova C, Oliveira RJ, Karnikowski MG, Nóbrega Ode T. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in Brazilian middle-aged and older adults. Sao Paulo Med J. 2007 Nov 1;125(6):333-7. doi: 10.1590/s1516-31802007000600006. PMID: 18317603.
40. Younossi ZM, Henry L, Bush H, Mishra A. Clinical and Economic Burden of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. Clin Liver Dis. 2018 Feb;22(1):1-10. doi: 10.1016/j.cld.2017.08.001. Epub 2017 Oct 14. PMID: 29128049.
41. World Health Organization. Obesity and overweight. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight.
42. Foster T, Anania FA, Li D, Katz R, Budoff M. The prevalence and clinical correlates of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in African Americans: the multiethnic study of atherosclerosis (MESA). Dig Dis Sci. 2013 Aug;58(8):2392-8. doi: 10.1007/s10620-013-2652-7. Epub 2013 Apr 2. PMID: 23546700; PMCID: PMC3780774.

43. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. J Hepatol. 2019 Mar;70(3):531-544. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.033. Epub 2018 Nov 9. PMID: 30414863.
44. Mittal S, El-Serag HB, Sada YH, Kanwal F, Duan Z, Temple S, et al. Hepatocellular Carcinoma in the Absence of Cirrhosis in United States Veterans is Associated With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Clin Gastroenterol Hepatol. 2016 Jan;14(1):124-31.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2015.07.019. Epub 2015 Jul 18. PMID: 26196445; PMCID: PMC4690789
45. Wang X, Li J, Riaz DR, Shi G, Liu C, Dai Y. Outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2014 Mar;12(3):394-402.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2013.09.023. Epub 2013 Sep 25. PMID: 24076414.
46. Younossi Z, Tacke F, Arrese M, Chander Sharma B, Mostafa I, Bugianesi E et al. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. Hepatology. 2019 Jun;69(6):2672-2682. doi: 10.1002/hep.30251. PMID: 30179269.
47. Al-Mutawa A, Anderson AK, Alsabah S, Al-Mutawa M. Nutritional Status of Bariatric Surgery Candidates. Nutrients. 2018 Jan 11;10(1):67. doi: 10.3390/nu10010067. PMID: 29324643; PMCID: PMC5793295.
48. Losekann A, Weston AC, de Mattos AA, Tovo CV, de Carli LA, Espindola MB, et al. Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH): Risk Factors in Morbidly Obese Patients. Int J Mol Sci. 2015 Oct 23;16(10):25552-9. doi: 10.3390/ijms161025552. PMID: 26512661; PMCID: PMC4632815.
49. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. J Hepatol. 2019 Oct;71(4):793-801. doi: 10.1016/j.jhep.2019.06.021. Epub 2019 Jul 4. PMID: 31279902.
50. Kwok R, Choi KC, Wong GL, Zhang Y, Chan HL, Luk AO, et al. Screening diabetic patients for non-alcoholic fatty liver disease with controlled attenuation parameter and liver stiffness measurements: a prospective cohort study. Gut. 2016 Aug;65(8):1359-68. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309265. Epub 2015 Apr 14. PMID: 25873639.
51. Gastaldelli A, Cusi K. From NASH to diabetes and from diabetes to NASH: Mechanisms and treatment options. JHEP Rep. 2019 Jul 19;1(4):312-328. doi: 10.1016/j.jhepr.2019.07.002. PMID: 32039382; PMCID: PMC7001557.

52. Sberna AL, Bouillet B, Rouland A, Brindisi MC, Nguyen A, Mouillot T, et al. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD) and European Association for the Study of Obesity (EASO) clinical practice recommendations for the management of non-alcoholic fatty liver disease: evaluation of their application in people with Type 2 diabetes. Diabet Med. 2018 Mar;35(3):368-375. doi: 10.1111/dme.13565. Epub 2018 Jan 10. PMID: 29247558.
53. Kumar KS, Malet PF. Nonalcoholic steatohepatitis. Mayo Clin Proc. 2000 Jul;75(7):733-9. doi: 10.4065/75.7.733. PMID: 10907390.
54. Handa P, Vemulakonda AL, Maliken BD, Morgan-Stevenson V, Nelson JE, Dhillon BK, et al. Differences in hepatic expression of iron, inflammation and stress-related genes in patients with nonalcoholic steatohepatitis. Ann Hepatol. 2017 Jan-Feb 2017;16(1):77-85. doi: 10.5604/16652681.1226818. PMID: 28051796.
55. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc. 1980 Jul;55(7):434-8. PMID: 7382552.
56. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. Am J Gastroenterol. 1999 Sep;94(9):2467-74. doi: 10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x. PMID: 10484010.
57. 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 Jun;41(6):1313-21. doi: 10.1002/hep.20701. PMID: 15915461.
58. Bedossa P, Poitou C, Veyrie N, Bouillot JL, Basdevant A, Paradis V, et al. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. Hepatology. 2012 Nov;56(5):1751-9. doi: 10.1002/hep.25889. PMID: 22707395.
59. Kleiner DE, Makhlouf HR. Histology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in Adults and Children. Clin Liver Dis. 2016 May;20(2):293-312. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.011. Epub 2015 Dec 28. PMID: 27063270; PMCID: PMC4829204.
60. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA; NASH Clinical Research Network (CRN). Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and

the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. Hepatology. 2011 Mar;53(3):810-20. doi: 10.1002/hep.24127. Epub 2011 Feb 11. PMID: 21319198; PMCID: PMC3079483.

61. Bedossa P; FLIP Pathology Consortium. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2014 Aug;60(2):565-75. doi: 10.1002/hep.27173. Epub 2014 Jun 26. PMID: 24753132.
62. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. Semin Liver Dis. 2012 Feb;32(1):3-13. doi: 10.1055/s-0032-1306421. Epub 2012 Mar 13. PMID: 22418883.
63. Hannah WN Jr, Harrison SA. Noninvasive imaging methods to determine severity of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 2016 Dec;64(6):2234-2243. doi: 10.1002/hep.28699. Epub 2016 Aug 5. PMID: 27338123.
64. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? Gastroenterology. 1998 Apr;114(4):842-5. doi: 10.1016/s0016-5085(98)70599-2. PMID: 9547102.
65. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Metabolism. 2016 Aug;65(8):1038-48. doi: 10.1016/j.metabol.2015.12.012. Epub 2016 Jan 4. PMID: 26823198.
66. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. Hepatology. 2010 Nov;52(5):1836-46. doi: 10.1002/hep.24001. PMID: 21038418.
67. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatcharoenwitthaya 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 Aug;149(2):389-97.e10. doi: 10.1053/j.gastro.2015.04.043. Epub 2015 Apr 29. PMID: 25935633; PMCID: PMC4516664.
68. Vilar-Gomez E, Calzadilla-Bertot L, Wai-Sun Wong V, Castellanos M, Aller-de la Fuente R, Metwally M, et al. Fibrosis Severity as a Determinant of Cause-Specific Mortality in Patients With Advanced Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Multi-National Cohort Study. Gastroenterology. 2018 Aug;155(2):443-457.e17. doi: 10.1053/j.gastro.2018.04.034. Epub 2018 May 5. PMID: 29733831.
69. Dulai PS, Singh S, Patel J, Soni M, Prokop LJ, Younossi Z, et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and

meta-analysis. Hepatology. 2017 May;65(5):1557-1565. doi: 10.1002/hep.29085. Epub 2017 Mar 31. PMID: 28130788; PMCID: PMC5397356.

70. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, Kechagias S. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. J Hepatol. 2017 Dec;67(6):1265-1273. doi: 10.1016/j.jhep.2017.07.027. Epub 2017 Aug 10. PMID: 28803953..
71. Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol. 2010 Nov 14;16(42):5286-96. doi: 10.3748/wjg.v16.i42.5286. PMID: 21072891; PMCID: PMC2980677.
72. 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. 2015 Apr;13(4):643-54.e1-9; quiz e39-40. doi: 10.1016/j.cgh.2014.04.014. Epub 2014 Apr 24. PMID: 24768810; PMCID: PMC4208976.
73. Wong VW, Adams LA, de Lédinghen V, Wong GL, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2018 Aug;15(8):461-478. doi: 10.1038/s41575-018-0014-9. PMID: 29844588.
74. Rowe IA. Decision making for liver biopsy in NASH, not so FAST? Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020 Apr;5(4):332-334. doi: 10.1016/S2468-1253(19)30406-6. Epub 2020 Feb 3. PMID: 32027859.
75. Cotrim HP, Parise ER, Figueiredo-Mendes C, Galizzi-Filho J, Porta G, Oliveira CP. Nonacoholic Fatty Liver Disease Brazilian Society of Hepatology Consensus. Arq Gastroenterol. 2016 Apr-Jun;53(2):118-22. doi: 10.1590/S0004-28032016000200013. PMID: 27305420.
76. Sumida Y, Nakajima A, Itoh Y. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. World J Gastroenterol. 2014 Jan 14;20(2):475-85. doi: 10.3748/wjg.v20.i2.475. PMID: 24574716; PMCID: PMC3923022.
77. Cheah MC, McCullough AJ, Goh GB. Current Modalities of Fibrosis Assessment in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. J Clin Transl Hepatol. 2017 Sep 28;5(3):261-271. doi: 10.14218/JCTH.2017.00009. Epub 2017 Jun 24. PMID: 28936407; PMCID: PMC5606972.

78. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology. 2002 Sep;123(3):745-50. doi: 10.1053/gast.2002.35354. PMID: 12198701.
79. Loomba R. Role of imaging-based biomarkers in NAFLD: Recent advances in clinical application and future research directions. J Hepatol. 2018 Feb;68(2):296-304. doi: 10.1016/j.jhep.2017.11.028. Epub 2017 Dec 2. PMID: 29203392; PMCID: PMC5810949.
80. Ajmera V, Perito ER, Bass NM, Terrault NA, Yates KP, Gill R, et al. Novel plasma biomarkers associated with liver disease severity in adults with nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2017 Jan;65(1):65-77. doi: 10.1002/hep.28776. Epub 2016 Oct 12. PMID: 27532276; PMCID: PMC5191932.
81. Verma S, Jensen D, Hart J, Mohanty SR. Predictive value of ALT levels for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and advanced fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Liver Int. 2013 Oct;33(9):1398-405. doi: 10.1111/liv.12226. Epub 2013 Jun 13. PMID: 23763360.
82. Ma X, Liu S, Zhang J, Dong M, Wang Y, Wang M, Xin Y. Proportion of NAFLD patients with normal ALT value in overall NAFLD patients: a systematic review and meta-analysis. BMC Gastroenterol. 2020 Jan 14;20(1):10. doi: 10.1186/s12876-020-1165-z. PMID: 31937252; PMCID: PMC6961232.
83. Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, Yamaguchi K, Ono M, Fujii H, et al. A simple clinical scoring system using ferritin, fasting insulin, and type IV collagen 7S for predicting steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol. 2011 Feb;46(2):257-68. doi: 10.1007/s00535-010-0305-6. Epub 2010 Sep 15. PMID: 20842510.
84. Carvalho FR. Uma breve reflexão sobre a avaliação não invasiva da fibrose na DHGNA. Revista Hepato Brasil. Ano 6, n 1, 2019.
85. Anstee QM, Lawitz EJ, Alkhouri N, Wong VW, Romero-Gomez M, Okanoue T, et al. Noninvasive Tests Accurately Identify Advanced Fibrosis due to NASH: Baseline Data From the STELLAR Trials. Hepatology. 2019 Nov;70(5):1521-1530. doi: 10.1002/hep.30842. Epub 2019 Aug 19. PMID: 31271665.
86. Tovo CV, Villela-Nogueira CA, Leite NC, Panke CL, Port GZ, Fernandes S, et al. Transient hepatic elastography has the best performance to evaluate liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Ann Hepatol. 2019 May-Jun;18(3):445-449. doi: 10.1016/j.aohep.2018.09.003. Epub 2019 Apr 12. PMID: 31031166.

87. Dulai PS, Sirlin CB, Loomba R. MRI and MRE for non-invasive quantitative assessment of hepatic steatosis and fibrosis in NAFLD and NASH: Clinical trials to clinical practice. J Hepatol. 2016 Nov;65(5):1006-1016. doi: 10.1016/j.jhep.2016.06.005. Epub 2016 Jun 14. PMID: 27312947; PMCID: PMC5124376.
88. Leoni S, Tovoli F, Napoli L, Serio I, Ferri S, Bolondi L. Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis. World J Gastroenterol. 2018 Aug 14;24(30):3361-3373. doi: 10.3748/wjg.v24.i30.3361. PMID: 30122876; PMCID: PMC6092580.
89. Fazel Y, Koenig AB, Sayiner M, Goodman ZD, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. Metabolism. 2016 Aug;65(8):1017-25. doi: 10.1016/j.metabol.2016.01.012. Epub 2016 Jan 29. PMID: 26997539.
90. Roeb E, Geier A. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) - current treatment recommendations and future developments. Z Gastroenterol. 2019 Apr;57(4):508-517. English. doi: 10.1055/a-0784-8827. Epub 2019 Apr 9. PMID: 30965381.
91. Oliveira C P M S. Análise crítica do tratamento da Esteato Hepatite Não-Alcoólica. Revista Hepato Brasil. 2016-2017. http://sbhepatologia.org.br/pdf/cientifica_sbh.pdf.
92. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. JAMA. 2007 Feb 28;297(8):842-57. doi: 10.1001/jama.297.8.842. Erratum in: JAMA. 2008 Feb 20;299(7):765-6. PMID: 17327526.
93. Abner EL, Schmitt FA, Mendiondo MS, Marcum JL, Kryscio RJ. Vitamin E and all-cause mortality: a meta-analysis. Curr Aging Sci. 2011 Jul;4(2):158-70. doi: 10.2174/1874609811104020158. PMID: 21235492; PMCID: PMC4030744.
94. Schürks M, Glynn RJ, Rist PM, Tzourio C, Kurth T. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. BMJ. 2010 Nov 4;341:c5702. doi: 10.1136/bmj.c5702. PMID: 21051774; PMCID: PMC2974412.
95. Klein EA, Thompson IM Jr, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). JAMA. 2011 Oct 12;306(14):1549-56. doi: 10.1001/jama.2011.1437. PMID: 21990298; PMCID: PMC4169010.
96. Younossi ZM, Ratziu V, Loomba R, Rinella M, Anstee QM, Goodman Z et al. REGENERATE Study Investigators. Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase

3 trial. Lancet. 2019 Dec 14;394(10215):2184-2196. doi: 10.1016/S0140-6736(19)33041-7. Epub 2019 Dec 5. Erratum in: Lancet. 2020 Aug 1;396(10247):312. PMID: 31813633.

97. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Sanyal AJ, Neuschwander-Tetri BA; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Improvements in Histologic Features and Diagnosis Associated With Improvement in Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis: Results From the Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network Treatment Trials. Hepatology. 2019 Aug;70(2):522-531. doi: 10.1002/hep.30418. Epub 2019 Mar 7. PMID: 30549292; PMCID: PMC6570584.
98. Caravatto PP, Cohen R. The Role of Metabolic Surgery in Non-alcoholic Steatohepatitis Improvement. Curr Atheroscler Rep. 2017 Oct 7;19(11):45. doi: 10.1007/s11883-017-0681-y. PMID: 28986720.
99. De Luca M, Angrisani L, Himpens J, Busetto L, Scopinaro N, Weiner R et al. Indications for Surgery for Obesity and Weight-Related Diseases: Position Statements from the International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders (IFSO). Obes Surg. 2016 Aug;26(8):1659-96. doi: 10.1007/s11695-016-2271-4. PMID: 27412673; PMCID: PMC6037181.
100. Ganguli S, DeLeeuw P, Satapathy SK. A Review Of Current And Upcoming Treatment Modalities In Non-Alcoholic Fatty Liver Disease And Non-Alcoholic Steatohepatitis. Hepat Med. 2019 Nov 15;11:159-178. doi: 10.2147/HMER.S188991. PMID: 31814783; PMCID: PMC6863115.
101. Guyton AC, Hall, J E. Tratado de Fisiologia Médica. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
102. Rodwell V W et al. Bioquímica ilustrada de Harper. 30. ed. Porto Alegre: AMGH, 2017.
103. Chakraborti S, Chakrabarti P. Self-Assembly of Ferritin: Structure, Biological Function and Potential Applications in Nanotechnology. Adv Exp Med Biol. 2019;1174:313-329. doi: 10.1007/978-981-13-9791-2_10. PMID: 31713204.
104. Mehta KJ, Farnaud SJ, Sharp PA. Iron and liver fibrosis: Mechanistic and clinical aspects. World J Gastroenterol. 2019 Feb 7;25(5):521-538. doi: 10.3748/wjg.v25.i5.521. PMID: 30774269; PMCID: PMC6371002.
105. Britton LJ, Subramaniam VN, Crawford DH. Iron and non-alcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol. 2016 Sep 28;22(36):8112-22. doi: 10.3748/wjg.v22.i36.8112. PMID: 27688653; PMCID: PMC5037080.

106. Kowdley KV. Iron Overload in Patients With Chronic Liver Disease. Gastroenterol Hepatol (N Y). 2016 Nov;12(11):695-698. PMID: 28035198; PMCID: PMC5193089.
107. Valenti L, Dongiovanni P, Fargion S. Diagnostic and therapeutic implications of the association between ferritin level and severity of nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol. 2012 Aug 7;18(29):3782-6. doi: 10.3748/wjg.v18.i29.3782. PMID: 22876027; PMCID: PMC3413047.
108. Nelson JE, Wilson L, Brunt EM, Yeh MM, Kleiner DE, Unalp-Arida A et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Relationship between the pattern of hepatic iron deposition and histological severity in nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2011 Feb;53(2):448-57. doi: 10.1002/hep.24038. Epub 2010 Nov 29. PMID: 21274866; PMCID: PMC3058264.
109. Barros RK, Cotrim HP, Daltro CH, Oliveira YA. Hyperferritinemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Rev Assoc Med Bras. 2017; 63: 284– 289.
110. Du SX, Lu LL, Geng N, Victor DW, Chen LZ, Wang C et al. Association of serum ferritin with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. Lipids Health Dis. 2017 Dec 2;16(1):228. doi: 10.1186/s12944-017-0613-4. PMID: 29197393; PMCID: PMC5712169.
111. Cotrim HP. Hiperferritinemia: Muito além da Hemocromatose. Revista Hepato Brasil. Ano 5, n 4, 2018.
112. Haghgoo SM, Sharafi H, Alavian SM. Serum cytokines, adipokines and ferritin for non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver disease: a systematic review. Clin Chem Lab Med. 2019 Apr 24;57(5):577-610. doi: 10.1515/cclm-2018-0357. PMID: 30231008.
113. Ruddell RG, Hoang-Le D, Barwood JM, Rutherford PS, Piva TJ, Watters DJ et al. Ferritin functions as a proinflammatory cytokine via iron-independent protein kinase C zeta/nuclear factor kappaB-regulated signaling in rat hepatic stellate cells. Hepatology. 2009 Mar;49(3):887-900. doi: 10.1002/hep.22716. PMID: 19241483; PMCID: PMC2701483.
114. Pan X, Chen B, Liu W, Li Y, Hu Z, Lin X et al. Circulating Iron Levels Interaction with Central Obesity on the Risk of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Case-Control Study in Southeast China. Ann Nutr Metab. 2019;74(3):207-214. doi: 10.1159/000497228. Epub 2019 Mar 14. PMID: 30870854.

115. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Rovida S, Rametta R, Fatta E et al. A randomized trial of iron depletion in patients with nonalcoholic fatty liver disease and hyperferritinemia. World J Gastroenterol. 2014 Mar 21;20(11):3002-10. doi: 10.3748/wjg.v20.i11.3002. PMID: 24659891; PMCID: PMC3961977.
116. Murali AR, Gupta A, Brown K. Systematic review and meta-analysis to determine the impact of iron depletion in dysmetabolic iron overload syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. Hepatol Res. 2018 Feb;48(3):E30-E41. doi: 10.1111/hepr.12921. Epub 2017 Jul 20. PMID: 28593739.
117. Meier JA, Bokemeyer A, Cordes F, Fuhrmann V, Schmidt H, Hüsing-Kabar A, Kabar I. Serum levels of ferritin and transferrin serve as prognostic factors for mortality and survival in patients with end-stage liver disease: A propensity score-matched cohort study. United European Gastroenterol J. 2020 Apr;8(3):332-339. doi: 10.1177/2050640619891283. Epub 2019 Nov 26. PMID: 32213016; PMCID: PMC7184660.

6. ARTIGO CIENTÍFICO

CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE FERRITINA SÉRICA E A DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA EM PACIENTES SUBMETIDOS A CIRURGIA BARIÁTRICA

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

Autores:

Caroline Becker Giacomazzi – carolb_giac@hotmail.com

PhD. Paulo Roberto Ott Fontes – prfontes@terra.com.br

Autor correspondente:

Rua General Vitorino, 330 / 802; Bairro Centro
CEP 90020-170; Porto Alegre / Brasil
prfontes@terra.com.br (FONTES, PRO)

RESUMO

INTRODUÇÃO: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) tem se tornando um desafio na saúde pública, a medida que a prevalência da obesidade e sobrepeso vem aumentando em níveis endêmicos nos últimos anos. Diversos estudos estão sendo desenvolvidos na busca de métodos não invasivos e acessíveis para diagnosticar, estadiar e acompanhar a progressão da DHGNA. Os níveis de ferritina sérica (FS) estão comumente elevados em pacientes com DHGNA. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre os níveis de FS e a gravidade da DHGNA, explorando o papel da FS como marcador não invasivo de DHGNA. **METODOLOGIA:** Foram analisados os dados clínicos, antropométricos, laboratoriais e histológicos de 431 pacientes adultos portadores de obesidade, submetidos a cirurgia bariátrica. Os dados foram coletados no período pré-operatório e após o primeiro ano da cirurgia. **RESULTADOS:** A prevalência de hiperferritinemia no período pré-operatório foi de 18%. Na análise univariada, níveis de FS acima do limite superior da normalidade (LSN) foram significativamente associados ao aumento dos níveis de glicemia de jejum (GJ), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) bilirrubinas totais (BT) e uma menor contagem de plaquetas. Estes pacientes apresentaram também significativamente maior peso, prevalência em homens, *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), hipertensão arterial sistêmica (HAS) e graus histológicos mais avançados de DHGNA, em comparação com o grupo que possuía FS normal. Entretanto, a acurácia dos níveis de FS foi relativamente baixa, com índices de sensibilidade variando de 3-36%, e especificidade de 83-100%. Após análise de regressão múltipla, valores elevados de FS não foram preditores independentes de esteatose, esteatohepatite não-alcoólica (EHNA) ou fibrose hepática, e seus respectivos graus. Observou-se uma redução significativa dos níveis de FS após o primeiro ano da cirurgia bariátrica ($P < 0,001$). **CONCLUSÃO:** Níveis de FS aumentados são comuns em pacientes com DHGNA, e estão associados à graus histológicos mais avançados; contudo, não foram considerados fatores preditores independentes de esteatose, EHNA ou fibrose. A FS é um exame de baixo custo e amplamente disponível, que apesar de apresentar uma baixa sensibilidade, possui uma especificidade de 83-100% para identificar as características histológicas da DHGNA (esteatose, EHNA e fibrose), podendo auxiliar no seguimento dos pacientes portadores de obesidade com DHGNA.

PALAVRAS-CHAVE: ferritina sérica; obesidade; doença hepática gordurosa não alcoólica; fibrose hepática; esteatohepatite não alcoólica.

INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma das mais causas mais importantes de doença hepática no mundo, com uma prevalência global de aproximadamente 25%[1], e provavelmente, irá emergir como a principal causa de doença hepática terminal nas próximas décadas[2,3]. É uma doença complexa, que é afetada por fatores ambientais inter-relacionados e predisposição genética[2].

A síndrome metabólica (SM) tem íntima relação com a DHGNA. As estimativas globais de prevalência da SM em pacientes com DHGNA e com esteatohepatite não-alcoólica (EHNA) são de 42,54% e 70,65%, respectivamente[1]. A obesidade é o fator de risco mais comum e bem documentado para DHGNA[4,5]. Entre os pacientes com obesidade severa submetidos à cirurgia bariátrica, a prevalência de DHGNA pode exceder 90%, e até 5% desses pacientes podem ter cirrose inesperada[6,7].

A biópsia hepática é considerada o exame padrão ouro para o diagnóstico e classificação da DHGNA, sendo capaz de avaliar o prognóstico e orientar seu tratamento[4,5,8,9]. Como não é plausível realizar uma biópsia hepática em todos os pacientes, inúmeras modalidades não-invasivas estão sendo desenvolvidas para diagnosticar e estadiar a EHNA e a fibrose hepática, incluindo biomarcadores séricos e testes baseados em técnicas de imagem[8].

O tratamento bem-sucedido da EHNA deve reduzir a mortalidade associada à EHNA e a progressão para cirrose ou carcinoma hepatocelular (CHC)[5]. Nos doentes que não respondem às alterações do estilo de vida e à farmacoterapia, a cirurgia bariátrica é uma opção para perda ponderal e complicações metabólicas, com resultados estáveis a longo prazo. Uma série de trabalhos indica que a cirurgia bariátrica é eficaz na melhoria das lesões hepáticas associadas a DHNA, inclusive na necroinflamação e fibrose[10], com

desaparecimento das lesões de EHNA em até 85% dos pacientes um ano após o procedimento[10].

A característica histológica mais importante da DHGNA associada à mortalidade a longo prazo é a fibrose[4]. A fibrose hepática está associada ao aumento da mortalidade geral e relacionada ao fígado, e à maior probabilidade de desenvolver complicações hepáticas[11]. O estágio histológico é, portanto, crucial para o prognóstico a longo prazo[12].

A ferritina sérica (FS) é dosada rotineiramente em pacientes com DHGNA, como parte da investigação laboratorial para descartar outras causas de doença hepática[13]. Os níveis de FS são frequentemente elevados em pacientes com DHGNA, acometendo entre 20% a 40% dos pacientes[14,15]. Entretanto, não está claro se a hiperferritinemia é simplesmente uma consequência da gravidade da DHGNA ou contribui ativamente para a progressão da doença[13,14,16].

Estudos anteriores que examinaram a relação entre o nível de FS e a gravidade histológica na DHGNA encontraram resultados conflitantes, com alguns pesquisadores relatando que os níveis de FS estão associados ao aumento da gravidade histológica e da presença de EHNA e fibrose[14,15,17,18,19,20,21,22,23,24,25], enquanto outros não observaram esta associação[9,13,26,27].

Nesse contexto, a FS foi proposta como um marcador de EHNA e fibrose hepática e incorporada em painéis para avaliação da fibrose hepática[28,29,30]. Mais recentemente, a FS foi proposta como um preditor independente de mortalidade a longo prazo na DHGNA[15].

O objetivo do presente estudo foi de estudar a relação entre os níveis séricos de ferritina com os achados clínicos, antropométricos, laboratoriais e histológicos em pacientes adultos, portadores de obesidade, em acompanhamento no Centro de Tratamento da Obesidade do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, com o intuito de

identificar quais níveis específicos de FS poderiam se correlacionar com graus mais avançados de DHGNA.

MÉTODOS

A amostra foi obtida por conveniência. Foram avaliados retrospectivamente todos os pacientes submetidos à cirurgia bariátrica entre os anos de 2012 e 2017, que haviam dosado FS pré-operatória e realizado biópsia hepática no trans-operatório, do Centro de Tratamento da Obesidade (CTO) do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

O cálculo amostral foi estimado em 312 pacientes com FS aumentada, baseado no trabalho de Kowdley et al[14], no qual 85% dos pacientes com FS>1,5x LSN apresentavam algum grau de fibrose comparados com 72% do pacientes com FS<1.5x LSN, com confiança e poder de 95% e 80%, respectivamente.

Os critérios de inclusão no estudo foram: realização de biópsia hepática transoperatória, dosagem de FS no pré-operatório e indicação de cirurgia bariátrica de acordo com os critérios exigidos pelo Conselho Federal de Medicina (IMC acima de 40 kg/m² ou entre 35 e 40 kg/m² na presença de comorbidades clínicas, idade entre 18 e 65 anos, insucesso ou recidiva do peso nos últimos dois anos e ausência de contraindicações ao procedimento cirúrgico)[31].

Os critérios de exclusão foram: ingestão de álcool, marcadores sorológicos positivos pra hepatites virais B ou C e vírus da imunodeficiência humana (HIV). Foram analisados dados demográficos (idade, sexo), dados antropométricos (IMC), presença de comorbidades (hipertensão arterial, *diabetes mellitus* tipo 2 [DM2], dislipidemia), dados laboratoriais (FS, hemoglobina [Hb], aspartato aminotranferase [AST], alanina aminotransferase [ALT]),

glicemia de jejum [GJ], plaquetas, bilirrubina total [BT]), dados histológicos e técnica cirúrgica . Os níveis de FS também foram avaliados após um ano do procedimento cirúrgico.

O Índice de Massa Corpórea (IMC), foi calculado pela fórmula que utiliza o peso corporal (Kg), dividido pela altura elevada ao quadrado (cm^2), segundo recomendações da Organização Mundial de Saúde[32].

Critérios para DM2 foram definidos pelas Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020[33], hipertensão arterial sistêmica pela Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial[34] e dislipidemia pela Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Arterosclerose- 2017[35].

As biópsias hepáticas foram realizadas durante o período transoperatório da cirurgia bariátrica, e posteriormente, analisadas no Laboratório de Patologia da Santa Casa de Porto Alegre, por um patologista experiente em patologia hepática. As amostras foram coradas com hematoxilina/eosina e picrosirius para avaliação da fibrose. As biópsias hepáticas foram classificadas tendo como referência as classificações de Kleiner e Brunt[36], estratificando as variáveis esteatose, EHNA e fibrose.

O grau de esteatose foi dividido em grau 0 quando comprometia até 5% dos hepatócitos; grau 1 quando mais de 5 até 33% dos hepatócitos; grau 2 quando mais de 33 até 66% dos hepatócitos e grau 3 quando comprometia mais de 66% dos hepatócitos com infiltração gordurosa. A EHNA foi diagnosticada na presença da combinação de qualquer grau de esteatose hepática, associada a balonização hepatocelular e inflamação lobular, sendo classificada de acordo com sua atividade em leve, moderada e grave. A fibrose hepática foi estadiada em uma escala de 0 a 4 (0 = ausência de fibrose; estágio 1 = fibrose perisinusoidal/perivenular na zona 3; estágio 2 = fibrose periportal na zona 3; estagio 3 = fibrose septal/ponte, 4 = cirrose).

Os desfechos analisados foram presença de esteatose, EHNA e fibrose, bem como os seus respectivos graus: graus de esteatose (1 *vs* 2–3), atividade da EHNA (1 *vs* 2–3) e graus de fibrose (1-2 *vs* 3-4).

Foram definidos três modelos, estabelecendo a FS como uma variável independente dicotômica: FS aumentada (acima do limite superior da normalidade [LSN]), FS >1,5x LSN e FS>2,0x LSN. O LSN para a FS foi 291 ng/dL em mulheres e 322 ng/dL em homens. O LSN adotado para AST foi 34 U/L; ALT 49 U/L, glicose de jejum 99 mg/dL e bilirrubina total 1,22 mg/dL, Hb 11,6g/dL a 15,6g/dL, e plaquetas 150.000µL a 440.000µL , de acordo com os valores de referência do Laboratório de Análises Clínicas desta instituição.

ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), e aprovado sob parecer 4.222.712 (Anexo 1).

Foi solicitada a dispensa de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), pois se trata de estudo retrospectivo, que não envolveu nova coleta de material biológico ou novo contato com os pacientes.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos foram apresentados através de média e desvio-padrão (DP), enquanto os qualitativos através de frequência e percentual. A comparação das características demográficas, antropométricas, laboratoriais e histológicas com a classificação da ferritina sérica foi realizada pelo Teste t de Student e pelo Teste Qui-Quadrado.

A capacidade dos níveis de FS de diferenciar os pacientes que apresentaram os desfechos daqueles que não apresentaram, foi avaliada através da área sob a curva característica de operação do receptor (*Receiver Operating Characteristic*, ROC). Quando a área obtida é superior a 0,7, pode-se concluir que o modelo tem um poder discriminatório aceitável[37]. As variáveis consideradas preditoras independentes para cada desfecho foram selecionadas através do método *forward stepwise* na análise de regressão logística multivariada, onde para cada desfecho foram gerados três modelos com FS > LSN, FS >1,5x LSN e FS > 2x LSN, com todas as variáveis associadas significativamente com a FS. A força das associações foi apresentada pelo *Odds Ratio* (OR) com intervalo de confiança (IC) de 95%.

O impacto da perda ponderal nos níveis de FS após um ano da realização da cirurgia bariátrica foi analisado pelo teste *t de Student* para dados pareados. Foram considerados resultados significativos cujo p<0,05. As análises foram realizadas no software SPSS versão 23.

RESULTADOS

O total de 431 indivíduos adultos (maiores de 18 anos) foi avaliado no presente estudo.

A comparação dos dados demográficos, clínicos e laboratoriais entre os pacientes com FS normal e aqueles com FS aumentada é apresentada na Tabela 1. A média de idade geral foi de 36,9 anos. O IMC médio foi de 44,4 kg / m2. O sexo feminino correspondeu a 78,4% da amostra. Em relação às comorbidades, dislipidemia em foi observada em 39% dos pacientes, DM2 em 16,9% e HAS em 41,8%. FS aumentada foi observada em 18% da amostra (78 pacientes). Pacientes com FS aumentada apresentaram níveis mais elevados de GJ, AST, ALT, BT e menor contagem de plaquetas (P <0,001). Estes pacientes

apresentaram também significativamente maior peso, prevalência de DM2 e HAS, e foram mais comuns no sexo masculino, em comparação com o grupo que apresentava FS normal. Não foram observadas diferenças entre os grupos quanto a idade, IMC, técnica cirúrgica, dislipidemia e Hb.

Os níveis de FS foram avaliados também 1 ano após a cirurgia em 247 (57,3%) pacientes. Observou-se uma redução significativa dos níveis de FS, em média, de 186,1 ± 176,5 para 157,9 ± 154,1 ($p<0,001$) (Figura 1). O percentual de pacientes com hiperferritinemia diminuiu de 18% no pré operatório para 14% um ano após o procedimento.

Foi observada uma associação linear significativa dos graus de esteatose, EHNA e fibrose com a FS (Tabela 2). Pacientes com FS aumentada apresentaram significativamente maior proporção de esteatose grau 3 e menor de grau 0 e 1 em relação aos pacientes com FS normal. Para EHNA e fibrose, pacientes com FS aumentada apresentaram maior proporção dos graus 2 e 3 respectivamente, em relação aos pacientes com FS normal. Apenas dois pacientes apresentaram fibrose grau 4 (cirrose).

De modo geral, a discriminação da FS foi baixa para todos os modelos uma vez que a área sob a curva ROC variou de 0,54 para atividade da EHNA a 0,64 para presença de esteatose. Apenas 36 (8,3%) e 17 (3,9%%) pacientes tiveram FS 1,5 e 2 vezes acima do LSN, respectivamente. A especificidade observada nesses dois critérios foi de pelo menos 93%, porém a sensibilidade variou de 3%, quando FS >2x LSN para presença de fibrose, a 20% quando FS >1,5x LSN para graus de fibrose. Já a sensibilidade da FS aumentada (>LSN) variou de 20% a 36% e a especificidade permaneceu elevada (de 83% a 98%). A especificidade da FS aumentada 1,5x LSN e 2x LSN foi de 100%, ou seja, todos estes pacientes apresentaram esteatose (Tabela 3).

Estratificando a FS de acordo com o sexo, foram avaliados os pontos de corte para quatro desfechos através da curva ROC. Na Tabela 4, observa-se a área sob a curva

(AUROC) e o IC 95% para essa estimativa. Observando os valores de FS em mulheres, os pontos de corte foram muito baixos, estando dentro do LSN normalidade para a FS (LSN 291 ng/dL). Em homens, os valores de FS foram mais elevados, entretanto, foram superiores ao LSN (322 ng/dL) para a presença de EHNA e fibrose, mas não para seus graus de atividade.

A FS aumentada (>LSN) demonstrou associação significativa com a presença de esteatose (OR=9,8; p=0,025**),** graus de esteatose (OR=3,5, p<0,001) e graus de fibrose (OR=2,8, p=0,008). FS aumentada em 1,5 vezes o LSN também se mostrou associada aos mesmos três desfechos e ainda com atividade da EHNA (OR=2,3, p=0,038). Já a FS aumentada em 2 vezes o LSN teve associação com os graus de esteatose, atividade da EHNA e graus de fibrose. Não foi possível calcular o OR para esteatose quando FS >1,5x LSN e >2x LSN pois todos os pacientes com FS aumentada apresentaram esteatose (Tabela 5).

As variáveis associadas significativamente com cada desfecho, ou seja, fatores preditores independentes de esteatose, EHNA, fibrose e seus respectivos graus são apresentadas na Tabela 6. A FS não foi um bom preditor para nenhum dos desfechos. As variáveis sexo e HAS foram associadas à presença de esteatose, DM2 à EHNA e DM2 e ALT elevada com a presença de fibrose. Para graus de esteatose mostraram-se associados o peso, DM2, HAS e ALT alterado; para atividade da EHNA apenas DM2 e para graus de fibrose o sexo, GJ e AST alterados.

DISCUSSÃO

À medida que as epidemias de obesidade e DM2 aumentam em todo o mundo, a prevalência de DHGNA aumenta proporcionalmente[38]. A EHNA compreende o subtipo

mais preocupante da DHGNA, por ser uma doença hepática potencialmente progressiva, podendo evoluir para cirrose, falência hepática e CHC[4].

Atualmente, a biópsia hepática é o exame mais confiável para identificar a presença de EHNA e fibrose em pacientes com DHGNA, entretanto, devido à alta prevalência, custos, morbidade e mortalidade associados, a biópsia hepática não pode ser considerada para todos os pacientes[4,17]. Por estas razões, existe um interesse significativo no desenvolvimento de escores de prognóstico clínico e biomarcadores não-invasivos para a identificação de esteatose, EHNA e fibrose hepática em pacientes com DHGNA, que possam ser amplamente utilizados na prática clínica[4].

A FS é uma das proteínas mais estudadas nos dias de hoje, sendo um importante marcador clínico de inflamação, infecção e malignidade[39]. A FS é utilizada em pacientes com DHGNA como parte da investigação laboratorial para descartar outras causas de doença hepática[13]. Os níveis de FS são frequentemente elevados em pacientes com DHGNA, acometendo entre 20% a 40% dos pacientes[14,15].

Neste estudo, realizamos uma análise retrospectiva dos dados de 431 pacientes obesos com indicação de cirurgia bariátrica, que realizaram biópsia hepática no período transoperatório. Os pacientes incluídos foram semelhantes a outras coortes na literatura, exceto pelo IMC mais elevado, pois a totalidade da amostra foi composta por pacientes portadores de obesidade. Embora o IMC não tenha sido uma variável significativamente estatística entre os grupo de pacientes com FS normal e com FS aumentada (P=0,369), os resultados do presente estudo não podem ser generalizados para o amplo espectro de pacientes com DHGNA.

Não houve diferenças estatísticas entre os pacientes com FS normal e FS aumentada em relação à média de idade, IMC, técnica cirúrgica, presença de dislipidemia e níveis de

hemoglobina. Houve correlação significativa da FS aumentada com o peso, mas não com o IMC.

No estudo de Kowdley et al, IMC e FS foram inversamente relacionados. A hipótese levantada foi de que pacientes com IMC mais alto teriam níveis de hepcidina circulante mais elevados, devido à produção deste hormônio regulador do ferro a partir do tecido adiposo. A hepcidina reduz a absorção e a reabsorção de ferro ligando-se e a proteína carreadora de ferro, ferroportina, nos enterócitos, macrófagos e hepatócitos, reduzindo os estoques de ferro e os níveis circulantes de FS[14]. O IMC elevado dos pacientes incluídos em nosso estudo pode ter contribuído para que os níveis de FS não apresentassem uma elevação tão significativa nos diferentes graus de DHGNA.

Quando foram avaliados os níveis de FS de acordo com o sexo, as mulheres apresentaram menores índices de FS aumentada, e o fato de serem jovens e estarem em período fértil pode ter contribuído para níveis mais baixos de FS. Os componentes da SM foram distribuídos sem diferenças significativas entre homens e mulheres.

Estudos anteriores que examinaram a relação entre o nível de SF e a gravidade histológica na DHGNA encontraram resultados conflitantes, com alguns relatos de associação entre os níveis de FS e a maior gravidade de alterações à histologia (EHNA e fibrose)[14,15,17,18,19,20,21,22,23,24,25], enquanto outros não observaram esta associação[9,13,26,27], sendo que a explicação para esta discrepância não está clara. Uma possível explicação seria a de que variantes/polimorfismos de genes envolvidos no metabolismo do ferro, além do HFE, podem ter um impacto nos níveis de FS e ferro hepático em pacientes com DHGNA, portanto, diferenças relacionadas à etnia e geografia são esperadas, e poderiam contribuir para a heterogenicidade dos resultados[18].

Um dos estudos pioneiros que correlacionou a FS a gravidade da DHGNA foi o estudo de Kowdley et al. Em uma amostra de 628 pacientes, a FS superior a 1,5 x o LSN estava

associada à deposição hepática de ferro, diagnóstico de EHNA e pior atividade histológica, sendo considerada um fator preditor independente de fibrose hepática avançada entre pacientes com DHGNA[14].

No presente estudo, níveis elevados de FS foram associados a graus histológicos mais avançados de DHGNA. Uma proporção maior de pacientes com FS aumentada apresentou esteatose grau 3, EHNA grau 2 e fibrose grau 3, em relação aos pacientes com FS normal. A proporção de indivíduos com fibrose avançada (estágio 3 ou 4) foi de 16,7% em pacientes com FS aumentada, e de 6,5% em pacientes com FS normal.

Para investigar se diferentes níveis de FS elevada estariam independentemente associados à histologia, foi utilizada uma análise de regressão logística multivariada por etapas. Foram incluídas as seguintes variáveis, selecionadas a priori: idade na biópsia, sexo, IMC, presença de DM2, HAS, ALT e AST. Nos três modelos, FS aumentada (>LSN), FS >1,5x o LSN e >2,0x o LSN, a FS não demostrou uma associação independente com esteatose, EHNA, fibrose e seus respectivos graus. Portanto, embora os níveis de FS aumentados estivessem significativamente associados a uma pior histologia hepática, a FS não foi um bom preditor para estes desfechos por si só. A AST foi um fator preditor independente para graus de EHNA e graus de fibrose, e ALT para graus de esteatose e presença de fibrose.

No estudo de Manousou et al, foi possível estabelecer um valor de FS como ponto de corte de 240 ng/ml, para determinar a presença de fibrose e/ou inflamação em pacientes com DHGNA, com sensibilidade de 91% e especificidade de 70%. A área sob a curva ROC em relação ao ponto de corte de 240ng/ml de FS avaliando a combinação de fibrose com duas características da inflamação (por exemplo EHNA), foi de 0,82 (IC95% 0,73-0,90)[17]. Diferentemente em nosso estudo, não foi possível definir um ponto de corte com a mesma acurácia. Em mulheres, os pontos de corte foram muito baixos, variando de 101.4 ng/ml a

163 ng/ml (AUROC 0,57 e 0,53). Em homens, a os pontos de corte foram mais elevados, variando de 266 ng/ml a 390,5 ng/ml (AUROC 0.56 e 0,55).

Yoneda et al investigou a utilidade diagnóstica do uso da FS para detectar fibrose hepática em pacientes com DHGNA. Embora os níveis de FS tenham sido significativamente superiores em graus histológicos mais avançados de DHGNA, a área sob a curva ROC não foi adequada para predizer fibrose nestes pacientes[24]. O presente estudo apresentou resultados semelhantes, com os níveis de FS aumentados relacionados significativamente aos graus de fibrose 2 e 3, porém com uma AUROC de 0,56 para fibrose e de 0,62 para graus de fibrose.

Os fatores considerados preditores independentes de fibrose neste trabalho foram a presença de DM2 (OR 2,78, IC 95% 1,44-5,36, P 0,002) e níveis elevados de ALT (OR 2,28; 95 % IC 1,17-4,46, p <0,016). A FS não demostrou essa associação, e portanto, não deve ser utilizada isoladamente nestes pacientes para prever com precisão a presença ou gravidade da fibrose hepática, ou na tomada de decisões sobre a necessidade de uma biópsia hepática para estadiamento da fibrose.

Nos pacientes avaliados neste estudo, os níveis de FS reduziram significativamente após um ano da cirurgia bariátrica, em média, de 186,1±176,5 para 157,9±154,1 (p<0,001).

As potenciais limitações do presente estudo incluem o desenho retrospectivo, o tamanho amostral e a indisponibilidade de análise genética para afastar a concomitância de mutações no gene HFE associadas à hemocromatose hereditária. Como todos os pacientes foram elegidos no Centro de Tratamento da Obesidade da ISCMPA, o viés de seleção não pode ser excluído. Em relação a dosagem da FS, embora o LSN da FS tenha sido ajustado para ser específico ao sexo, reconhecemos que, na prática, o intervalo de referência normal pode variar entre os laboratórios clínicos, fato que deve ser lembrado ao interpretar os valores absolutos de FS em pacientes com DHGNA.

Através deste estudo, concluímos que a FS aumentada apresenta associação significativa com a presença de esteatose, EHNA e fibrose e seus respectivos graus, entretanto, o aumento da FS não pode ser considerado um fator preditor independente para estes desfechos. Observamos também que houve redução significativa dos níveis de FS após um ano da cirurgia bariátrica. A FS é um exame de baixo custo e amplamente disponível, que apesar de apresentar uma baixa sensibilidade, possui uma alta especificidade para identificar as características histológicas da DHGNA, podendo auxiliar no seguimento dos pacientes com DHGNA.

REFERÊNCIAS

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. Hepatology. 2016 Jul;64(1):73-84. doi: 10.1002/hep.28431. Epub 2016 Feb 22. PMID: 26707365.
2. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2018 Jan;15(1):11-20. doi: 10.1038/nrgastro.2017.109. Epub 2017 Sep 20. PMID: 28930295.
3. Marchesini G, Mazzotti A. NAFLD incidence and remission: only a matter of weight gain and weight loss? J Hepatol. 2015 Jan;62(1):15-7. doi: 10.1016/j.jhep.2014.10.023. Epub 2014 Oct 22. PMID: 25450705.
4. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology. 2018 Jan;67(1):328-357. doi: 10.1002/hep.29367. Epub 2017 Sep 29. PMID: 28714183.
5. European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2016 Jun;64(6):1388-402. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.004. Epub 2016 Apr 7. PMID: 27062661.
6. Sasaki A, Nitta H, Otsuka K, Umemura A, Baba S, Obuchi T, Wakabayashi G. Bariatric surgery and non-alcoholic Fatty liver disease: current and potential future treatments.

Front Endocrinol (Lausanne). 2014 Oct 27;5:164. doi: 10.3389/fendo.2014.00164. PMID: 25386164; PMCID: PMC4209858.

7. Younossi Z, Henry L. Contribution of Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease to the Burden of Liver-Related Morbidity and Mortality. Gastroenterology. 2016 Jun;150(8):1778-85. doi: 10.1053/j.gastro.2016.03.005. Epub 2016 Mar 12. PMID: 26980624.

8. Younossi ZM, Loomba R, Anstee QM, Rinella ME, Bugianesi E, Marchesini G, et al. Diagnostic modalities for nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and associated fibrosis. Hepatology. 2018 Jul;68(1):349-360. doi: 10.1002/hep.29721. PMID: 29222917; PMCID: PMC6511364.

9. Goh GB, Issa D, Lopez R, Dasarathy S, Dasarathy J, Sargent R, et al. The development of a non-invasive model to predict the presence of non-alcoholic steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol Hepatol. 2016 May;31(5):995-1000. doi: 10.1111/jgh.13235. PMID: 26589761.

10. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J, et al. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. Gastroenterology. 2015 Aug;149(2):379-88; quiz e15-6. doi: 10.1053/j.gastro.2015.04.014. Epub 2015 Apr 25. PMID: 25917783.

11. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål 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 May;61(5):1547-54. doi: 10.1002/hep.27368. Epub 2015 Mar 23. PMID: 25125077.

12. Cazzo E, Pareja JC, Chaim EA. Nonalcoholic fatty liver disease and bariatric surgery: a comprehensive review. Sao Paulo Med J. 2017 May-Jun;135(3):277-295. doi: 10.1590/1516-3180.2016.0306311216. Epub 2017 May 29. PMID: 28562737.

13. Angulo P, George J, Day CP, Vanni E, Russell L, De la Cruz AC, et al. Serum ferritin levels lack diagnostic accuracy for liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Clin Gastroenterol Hepatol. 2014 Jul;12(7):1163-1169.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2013.11.035. Epub 2013 Dec 14. PMID: 24342745; PMCID: PMC4057997

14. Kowdley KV, Belt P, Wilson LA, Yeh MM, Neuschwander-Tetri BA, Chalasani N, et al; NASH Clinical Research Network. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2012 Jan;55(1):77-85. doi: 10.1002/hep.24706. Epub 2011 Dec 6. PMID: 21953442; PMCID: PMC3245347.

15. Hagström H, Nasr P, Bottai M, Ekstedt M, Kechagias S, Hultcrantz R, et al. Elevated serum ferritin is associated with increased mortality in non-alcoholic fatty liver disease after 16 years of follow-up. Liver Int. 2016 Nov;36(11):1688-1695. doi: 10.1111/liv.13144. Epub 2016 Apr 28. PMID: 27064133.

16. Datz C, Müller E, Aigner E. Iron overload and non-alcoholic fatty liver disease. Minerva Endocrinol. 2017 Jun;42(2):173-183. doi: 10.23736/S0391-1977.16.02565-7. Epub 2016 Nov 11. PMID: 27834478.

17. Manousou P, Kalambokis G, Grillo F, Watkins J, Xirouchakis E, Pleguezuelo M, et al. Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. Liver Int. 2011 May;31(5):730-9. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02488.x. Epub 2011 Mar 6. PMID: 21457446.

18. Buzzetti E, Petta S, Manuguerra R, Luong TV, Cabibi D, Corradini E, et al. Evaluating the association of serum ferritin and hepatic iron with disease severity in non-alcoholic

fatty liver disease. Liver Int. 2019 Jul;39(7):1325-1334. doi: 10.1111/liv.14096. Epub 2019 Mar 27. PMID: 30851216.

19. Amin RF, El Bendary AS, Ezzat SE, Mohamed WS. Serum Ferritin level, microalbuminuria and non-alcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients. Diabetes Metab Syndr. 2019 May-Jun;13(3):2226-2229. doi: 10.1016/j.dsx.2019.05.030. Epub 2019 May 25. PMID: 31235161.

20. Parikh P, Patel J, Ingle M, Sawant P. Serum ferritin levels predict histological severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease in India. Indian J Gastroenterol. 2015 May;34(3):200-8. doi: 10.1007/s12664-015-0572-5. Epub 2015 Jun 25. PMID: 26108652.

21. Ryan JD, Armitage AE, Cobbold JF, Banerjee R, Borsani O, Dongiovanni P, et al. Hepatic iron is the major determinant of serum ferritin in NAFLD patients. Liver Int. 2018 Jan;38(1):164-173. doi: 10.1111/liv.13513. Epub 2017 Jul 29. PMID: 28679028.

22. You G, Ding J, Shen J, Wang Y, Sun Y. Association between serum ferritin and non-alcoholic fatty liver disease among middle-aged and elderly Chinese with normal weight. Asia Pac J Clin Nutr. 2019;28(4):747-753. doi: 10.6133/apjcn.201912_28(4).0011. PMID: 31826372.

23. Jeong DW, Lee HW, Cho YH, Yi DW, Lee SY, Son SM, et al. Comparison of serum ferritin and vitamin d in association with the severity of nonalcoholic Fatty liver disease in korean adults. Endocrinol Metab (Seoul). 2014 Dec 29;29(4):479-88. doi: 10.3803/EnM.2014.29.4.479. PMID: 25559574; PMCID: PMC4285033.

24. Yoneda M, Thomas E, Sumida Y, Imajo K, Eguchi Y, Hyogo H, et al. Clinical usage of serum ferritin to assess liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Proceed with caution. Hepatol Res. 2014 Dec;44(14):E499-502. doi: 10.1111/hepr.12327. Epub 2014 Apr 10. PMID: 24628717.

25. El Nakeeb N, Saleh SA, Massoud YM, Hussein A, Hamed R. Serum ferritin as a non-invasive marker in the prediction of hepatic fibrosis among Egyptian patients with non-alcoholic fatty liver disease. JGH Open. 2017 Nov 13;1(3):112-119. doi: 10.1002/jgh3.12019. PMID: 30483546; PMCID: PMC6207043.

26. Modares Mousavi SR, Geramizadeh B, Anushiravani A, Ejtehadi F, Anbardar MH, Moini M. Correlation between Serum Ferritin Level and Histopathological Disease Severity in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. Middle East J Dig Dis. 2018 Apr;10(2):90-95. doi: 10.15171/mejdd.2018.96. Epub 2018 Mar 12. PMID: 30013757; PMCID: PMC6040928..

27. Chandok N, Minuk G, Wengiel M, Uhanova J. Serum ferritin levels do not predict the stage of underlying non-alcoholic fatty liver disease. J Gastrointestin Liver Dis. 2012 Mar;21(1):53-8. PMID: 22457860.

28. Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. Hepatology. 2009 Oct;50(4):1072-8. doi: 10.1002/hep.23050. PMID: 19585618; PMCID: PMC2757511.

29. Hanafy AS, Seleem WM, El-Kalla F, AbdAlkhalik Basha M, Abd-Elsalam S. Efficacy of a non-invasive model in predicting the cardiovascular morbidity and histological severity in non-alcoholic fatty liver disease. Diabetes Metab Syndr. 2019 May-Jun;13(3):2272-2278. doi: 10.1016/j.dsx.2019.05.032. Epub 2019 May 29. PMID: 31235168.

30. Jiang Y, Zeng J, Chen B. Hemoglobin combined with triglyceride and ferritin in predicting non-alcoholic fatty liver. J Gastroenterol Hepatol. 2014;29(7):1508-14. doi: 10.1111/jgh.12580. PMID: 24628002.

31. Conselho Federal de Medicina. Available from: https://portal.cfm.org.br/index.php?option=com_content&view=article&id=27326:2017-12-07-18-00-22&catid=3.

32. World Health Organization. Obesity and overweight. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight.

33. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. Available from: https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/DIRETRIZES-COMPLETA-2019-2020.pdf.

34. Malachias MVB, Plavnik FL, Machado CA, Malta D, Scala LCN, Fuchs S. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 1 - Conceituação, Epidemiologia e Prevenção Primária. Arq. Bras. Cardiol., São Paulo , v. 107, n. 3, supl. 3, p. 1-6, Sept. 2016. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2016004800002&lng=en&nrm=iso>. Access on 22 Nov. 2020. https://doi.org/10.5935/abc.20160151.

35. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Arterosclerose– 2017. Volume 109, No 2, Supl. 1, Agosto 2017.

36. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. Semin Liver Dis. 2012 Feb;32(1):3-13. doi: 10.1055/s-0032-1306421. Epub 2012 Mar 13. PMID: 22418883.

37. Omar RZ, Ambler G, Royston P, Eliahoo J, Taylor KM. Cardiac surgery risk modeling for mortality: a review of current practice and suggestions for improvement. Ann Thorac Surg. 2004 Jun;77(6):2232-7. doi: 10.1016/j.athoracsur.2003.10.032. PMID: 15172320.

38. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. J Hepatol. 2019 Mar;70(3):531-544. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.033. Epub 2018 Nov 9. PMID: 30414863.

39. Chakraborti S, Chakrabarti P. Self-Assembly of Ferritin: Structure, Biological Function and Potential Applications in Nanotechnology. Adv Exp Med Biol. 2019;1174:313-329. doi: 10.1007/978-981-13-9791-2_10. PMID: 31713204.

TABELA 1: Características demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes avaliados

Variável	Total (N=431)	Ferritina sérica		p-valor
		Normal (N=353)	Aumentada (N=78)	
Idade (anos)	36,9 ± 9,7	36,5 ± 9,6	38,8 ± 10,2	0,053
Peso (Kg)	119,1 ± 19,7	116,3 ± 17,2	131,5 ± 24,9	<0,001
IMC (Kg/m2)	44,4 ± 8,0	44,2 ± 8,3	45,1 ± 6,8	0,369
Sexo Feminino (%)	338 (78,4)	311 (88,1)	27 (34,6)	<0,001
*Técnica Bypass (%)	355 (82,9)	331 (84,0)	24 (70,6)	0,079
Dislipidemia (%)	168 (39,0)	135 (38,2)	33 (42,3)	0,591
DM (%)	73 (16,9)	48 (13,6)	25 (32,1)	<0,001
HAS (%)	180 (41,8)	131 (37,1)	49 (62,8)	<0,001
*GJ (mg/dL)	101,2 ± 32,8	98,2 ± 28,3	114,8 ± 45,9	0,003
*AST (U/L)	27,3 ± 14,3	25,8 ± 12,9	34,2 ± 17,9	<0,001
*ALT (U/L)	35,7 ± 24,2	32,3 ± 20,3	51,3 ± 32,9	<0,001
*BT (mg/dL)	0,51 ± 0,22	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,004
*Hb (g/dL)	13,9 ± 6,0	13,8 ± 6,6	14,6 ± 1,2	0,305
*Plaquetas (/µL) (x1000)	283 ± 66	292 ± 65	245 ± 58	<0,001
FS (ng/dL)	197,2 ± 209,3	120,8 ± 72	543,1 ± 270,2	<0,001
FS sexo Feminino	141,8 ± 149,6	110,9 ± 65,2	497,5 ± 310,9	<0,001
FS sexo Masculino	398,8 ± 265,4	194,1 ± 78,2	567,3 ± 245,8	<0,001
FS 1° ano (ng/dL)	157,9 ± 154,1	106,4 ± 89,4	389,5 ± 170,7	<0,001

Abreviações: IMC= índice de massa corpórea; DM2= *Diabetes Mellitus* tipo 2; HAS: hipertensão arterial sistêmica; GJ= glicemia de Jejum; AST= aspartato aminotranferase, ALT= alanina aminotransferase; BT= bilirrubina total; Hb= hemoglobina; FS= ferritina sérica. *Tamanho amostral: técnica (N=427), AST (N =414), ALT (N=404), Hb (N=389), BT (N=317), Plaquetas (N=360), FS 1° ano (N=247).

TABELA 2: Relação entre ferritina sérica e histologia hepática

Variável	Total (N=431)	Ferritina sérica Normal (N=353)	Ferritina sérica Aumentada (N=78)	p-valor
Esteatose				<0,001
0	41 (9,5)	40 (11,3)*	1 (1,3)	
1	135 (31,3)	123 (34,8)*	12 (15,4)	
2	129 (29,9)	103 (29,2)	26 (33,3)	
3	126 (29,2)	87 (24,6)	39 (50,0)*	
EHNA				0,026
0	119 (27,6)	103 (29,2)	16 (20,5)	
1	206 (47,8)	171 (48,4)	35 (44,9)	
2	104 (24,1)	77 (21,8)	27 (34,6)*	
3	2 (0,5)	2 (0,6)	0 (0,0)	
Fibrose				0,023
0	196 (45,5)	164 (46,5)	32 (41,0)	
1	178 (41,3)	148 (41,9)	30 (38,5)	
2	21 (4,9)	18 (5,1)	3 (3,8)	
3	34 (7,9)	22 (6,2)	12 (15,4)*	
4	2 (0,5)	1 (0,3)	1 (1,3)	

* Associação significativa (resíduo padronizado ajustado >1,96)

TABELA 3: Acurácia dos níveis séricos de ferritina

Desfecho	AUROC (IC95%)	Ferritina sérica (Se% / Esp%)		
		> LSN (N=78)	>1,5x LSN (N=36)	>2x LSN (N=17)
Esteatose	0,64 (0,57-0,72)	20 / 98	09 / 100	04 / 100
Graus de esteatose	0,62 (0,56-0,67)	26 / 91	12 / 96	06 / 99
EHNA	0,57 (0,52-0,63)	20 / 87	09 / 94	04 / 97
Atividade da EHNA	0,54 (0,47-0,61)	25 / 83	14 / 93	08 / 97
Fibrose	0,56 (0,50-0,61)	20 / 84	09 / 93	03 / 95
Graus de fibrose	0,62 (0,51-0,73)	36 / 83	20 / 93	04 / 95

AUROC= área sob a curva ROC; Se= sensibilidade; Esp= especificidade; LSN= Limite Superior da Normalidade; IC95%= Intervalo de confiança de 95%

TABELA 4. Ferritina sérica e pontos de corte de acordo com o sexo

	AUROC	IC 95%		Ponto de Corte	Se	Es
EHNA						
M	0,56	0,42	0,70	363,5	53	65
F	0,57	0,51	0,64	101,4	58	58
Atividade da EHNA						
M	0,71	0,60	0,83	358	75	58
F	0,54	0,47	0,61	111,5	56	54
Fibrose						
M	0,55	0,43	0,67	390,5	51	69
F	0,57	0,51	0,63	103,5	58	54
Fibrose Avançada						
M	0,59	0,41	0,77	266	79	41
F	0,53	0,39	0,67	173	41	70

EHNA= Esteato-hepatite não alcoólica; IC95%= Intervalo de confiança de 95%; Se=Sensibilidade; Es= especificidade; M= sexo masculino; F= sexo feminino.

TABELA 5: Associação dos níveis de ferritina sérica com os desfechos histológicos

Desfecho	FS>LSN		FS >1,5* LSN		FS >2* LSN	
	OR (IC95%)	p-valor	OR (IC95%)	p-valor	OR (IC95%)	p-valor
Esteatose	9,8 (1,3 ;72,7)	0,025	-	0,037	-	0,390
Graus de Esteatose	3,5 (1,8 ;6,8)	0,000	3,6 (1,4 ;9,5)	0,010	9,0 (1,2 ;68,7)	0,034
EHNA	1,6 (0,9 ;2,9)	0,124	1,6 (0,7 ;3,9)	0,256	1,2 (0,4 ;3,9)	0,702
Atividade da EHNA	1,7 (0,9 ;2,9)	0,077	2,3 (1,0 ;4,9)	0,038	3,3 (1,0 ;10,3)	0,042
Fibrose	1,2 (0,8 ;2,1)	0,384	1,3 (0,7 ;2,7)	0,408	0,7 (0,3 ;1,9)	0,530
Graus de Fibrose	2,8 (1,3 ;6,2)	0,008	3,0 (1,1 ;7,9)	0,030	6,1 (1,5 ;25,6)	0,014

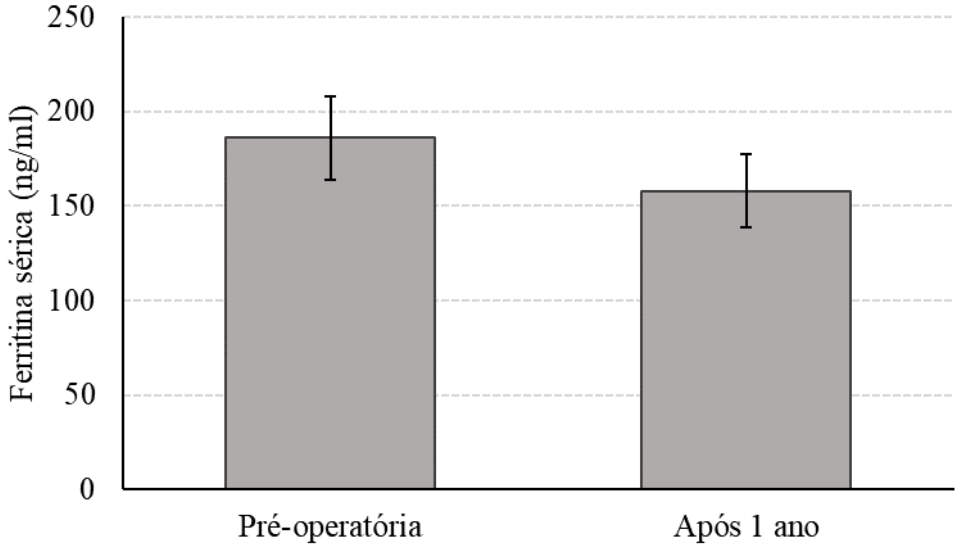
EHNA= Esteatohepatite não alcoólica; LSN= Limite Superior da Normalidade; OR= *Odds Ratio*; IC95%= Intervalo de confiança de 95%;

TABELA 6: Fatores associados aos desfechos na análise multivariada

Fatores	OR	IC 95%		p-valor
Esteatose				
Sexo (Masculino)	4,61	1,07	19,80	0,040
HAS	2,89	1,22	6,88	0,016
Esteatose graus				
Peso	1,02	1,00	1,03	0,012
DM	4,40	1,62	11,95	0,004
HAS	1,84	1,07	3,14	0,026
ALT	4,09	1,52	10,97	0,005
EHNA				
DM	3,02	1,38	6,63	0,006
Atividade da EHNA				
AST	3,19	1,61	6,33	0,001
Fibrose				
DM	2,78	1,44	5,36	0,002
ALT	2,28	1,17	4,46	0,016
Graus de Fibrose				
Sexo (Masculino)	3,21	1,31	7,85	0,011
GJ	2,88	1,20	6,88	0,018
AST	5,01	2,08	12,08	0,000

Abreviações: DM= *Diabetes Mellitus*; HAS: hipertensão arterial sistêmica; GJ= glicemia de jejum; AST= aspartato aminotranferase, ALT= alanina aminotransferase; OR= *Odds Ratio*, IC95%= Intervalo de confiança de 95%;

FIGURA 1. Comparação da ferritina sérica pré–operatória e um ano após a cirurgia (N=247)



7. CONCLUSÃO

Pacientes com FS aumentada apresentaram níveis mais elevados de GJ, AST, ALT, BT e menor contagem de plaquetas. Estes pacientes apresentaram também significativamente maior peso, prevalência em homens, DM2 e HAS, em comparação com o grupo que apresentava FS normal. Não houve diferença significativa nos níveis de FS quando considerados a idade, IMC, técnica cirúrgica, dislipidemia e hemoglobina.

Na análise univariada, a FS aumentada mostrou associação significativa com a presença de esteatose, EHNA e fibrose e seus respectivos graus, entretanto, a FS não foi um bom preditor para nenhum dos desfechos. A discriminação da FS foi baixa para todos os modelos uma vez que a área sob a curva ROC variou de 0,54 para atividade da EHNA a 0,64 para presença de esteatose.

Na análise multivariada, as variáveis sexo e HAS foram associadas à presença de esteatose, DM2 à EHNA e DM2 e ALT elevada com a presença de fibrose. Para graus de esteatose mostraram-se associados o peso, DM2, HAS e ALT alterado; para atividade da EHNA apenas DM2 e para graus de fibrose o sexo, GJ e AST alterados.

Os níveis de FS reduziram significativamente após um ano da cirurgia bariátrica, de 18% para 00 da amostra.

8. ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ENSINO E PESQUISA

IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICORDIA DE PORTO ALEGRE - ISCMPA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) nos pacientes com síndrome metabólica e obesidade mórbida: Avaliação de risco cardiovascular e diagnóstico invasivo vs não invasivo de fibrose.

Pesquisador: Cristiane Valle Tovo

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 37577314.8.0000.5335

Instituição Proponente: ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.222.712

Apresentação do Projeto:

A avaliação anterior não se altera em razão da emenda.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo da emenda:

Solicitar a inclusão dos seguintes pesquisadores:

- Caroline Becker Giacomazzi

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa encontra-se de acordo com a Norma vigente Resolução 466/12 para pesquisa em seres humanos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Carta justificando a inclusão de novo pesquisador apresentada e adequada e pesquisador incluído na Plataforma Brasil.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisa encontra-se de acordo com a Norma vigente Resolução 466/12 para pesquisa em seres humanos.

Endereço: R. Profº Annes Dias,295 Hosp.Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

ANEXO 2- REQUISITOS PARA SUBMISSÃO À REVISTA OBESITY SUREGERY

OBESITY SURGERY - INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

1. ABOUT OBSU

Obesity Surgery is published by Springer Nature and is the official journal of the International Federation for the Surgery of Obesity and metabolic disorders (IFSO). Requirements are in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals," www.icmje.org.

All manuscripts submitted to OBSU are blind-reviewed and decisioned through Editorial Manager (EM) (http://www.editorialmanager.com/obsu) . Letters to the Editor and Invited Replies do not need to be blinded.
Articles accepted for publication are done so with the understanding that they or their substantive contents have not been and will not be submitted to any other publication.

2. SUBMISSION REQUIREMENTS CHECKLIST

All items below must be ready and available upon submission.

TITLE PAGE

- ☐ Full Title and Short Title for Running Head
- ☐ All Contributing Authors, Full Names/Degrees, and Email Addresses/Affiliations
- ☐ "Corresponding Author" Information
- ☐ Detailed Acknowledgments, Funding Information, and non-blinded COI Statement

MANUSCRIPTS (EITHER ALL TEXT OR DYNAMIC ARTICLE WITH EMBEDDED VIDEO)

- ☐ Abstract (N/A for Letters to the Editor; optional for Brief Communications)
- ☐ Manuscript text (no Title Page) must be blinded for review purposes
- ☐ Required Ethical, COI, and Human/Animal Rights Statements (blinded)
- ☐ References in PubMed® style
- ☐ Optional: Embedded tables, schemes, figures and captions
- ☐ Video not to exceed three (3) minutes each in length (blinded)
- ☐ Video in either .MP4 or .MOV file format.

-OR-

MULTIMEDIA ARTICLE (submission in which the heart of the article is the video)

- ☐ Video Abstract, required Ethical, COI, and Human/Animal Rights statements, and references.
- ☐ Video not to exceed ten (10) minutes in length (blinded)
- ☐ Narration in English
- ☐ Video in either .MP4 or .MOV file format, not to exceed 500 MB.

FIGURES/IMAGES/MEDIA

- ☐ For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, use TIFF format.
- ☐ Figure width should be 39 mm, 84 mm, 129 mm or 174 mm, and no higher than 234 mm
- ☐ No identifying information about patients
- ☐ Patient and/or publisher permissions, if needed

OFFICIAL ICMJE CONFLICT OF INTEREST FORM(S):

- ☐ One form completed by each author (ex: 5 authors = 5 forms)

FOR REVISIONS ONLY:

- ☐ Revised text, tables and figures - One clean copy and one annotated copy
- ☐ A Point-by-Point Reply to Reviewer Comments (blinded for review purposes)

3. IMPORTANT SUBMISSION INFORMATION

3a. SYSTEM REQUIREMENTS

Authors will need the following items in order to use EM:

- Internet access
- A current Adobe Acrobat browser plug-in
- Electronic files of all required documents

3b. YOUR AUTHOR ACCOUNT

Authors entering the journal's EM site for the first time can create a new account at http://www.edmgr.com/obsu/ by clicking "Register Now," and then following the online prompts in order to create your account and submit a manuscript. NOTE: If you have previously accessed the system, *always use your existing account* for ALL subsequent submissions. If you have forgotten your Username or Password, use the "Send Login Details" link at the OBSU Login Page.

3c. ONLINE SUBMISSION

After you have logged into your account and entered your Submission Center, EM will lead you through a step-by-step manuscript submission process. The required documents for all online submissions include the main, blinded manuscript document, a separate Title Page document, and a Conflict of Interest (COI) form, which must be completed by each contributing author.

Note: Always keep original copies of your word-processing, graphic, video, and COI files.

Make sure that all required online fields are completed before attempting to submit; the system won't allow you to submit if any required fields are not completed. If you cannot finish your submission in one visit, you can save a draft and later re-enter the process at the same step by clicking on the "Incomplete Submissions" link in your Author Main Menu.

3d. SUPPORT AND ASSISTANCE

If you have questions or need assistance at any point during the submission and review process, contact our OBSU Managing Editor:

Attn: Deana Rodriguez
Managing Editor, OBSU Editorial Office Phone: +001 (562) 961-9928 E-mail: obsu.rodriguez@gmail.com

4. MANUSCRIPT PREPARATION

4a. JOINT STATEMENT BY THE SURGERY JOURNAL EDITORS GROUP 2018

We, the editors of surgery journals, believe that conducting sex-inclusive biomedical and clinical research is imperative to improving health outcomes of men and women. Recent studies have shown that the majority of biomedical research in the field of surgery and related topics is conducted on male animals and male cells, even when studying diseases prevalent in women.[1] Human clinical research suffers from a lack of sex-based reporting and sex-based analysis of the results.[2,3] Given these findings, the National Institutes of Health (NIH) has now asked that sex be considered as a biologic variable in all NIH-funded research.[4] As such, we support uniform, defined reporting of the sex used for human, animal, tissue, and cell research in ALL manuscripts published in our journals. If only one sex is reported, authors must include a justification statement as to why only a single-sex study was conducted. We also will require sex-based reporting and analysis of data for all human, animal, tissue, and cell research. As a group, we will require this among all our collective surgery journals.

References

1. Yoon DY, Mansukhani NA, Stubbs VC, Helenowski IB, Woodruff TK, Kibbe MR. Sex bias exists in basic science and translational surgical research. *Surgery*.2014;156(3):508-516.
2. U.S. Government Accountability Office. National Institutes of Health: Better Oversight Needed to Help Ensure Continued Progress Including Women in Health Research.2015
3. Mansukhani NA, Yoon DY, Teter KA, Stubbs VC, Helenowski IB, Woodruff TK, Kibbe MR. Determining If Sex Bias Exists in Human Surgical Clinical Research. JAMA Surg. 2016 Nov 1;151(11):1022-1030.
4. National Institutes of Health Office of Extramural Research. Consideration of Sex as a Biological Variable in NIH-funded Research. 2015

4b. MANUSCRIPT TERMINOLOGY

Please make note of the required manuscript terminology standards**.**

Mandatory

Weight loss must be expressed as change in BMI or %total weight loss (%TWL)

The term for the operative procedure that was previously labeled "Mini Gastric Bypass (MGB)" should no longer be used. Instead, use the accepted term "One Anastomosis Gastric Bypass (OAGB)".

In addition, weight loss may also be expressed as % Excess Weight Loss (%EWL), with the calculation of ideal body weight as that equivalent to a BMI of 25 kg/m^2 and/or % Excess BMI Lost (%EBMIL) with excess BMI > 25 kg/m^2 **as well as** % total body weight loss. The percent of Excess Weight Loss **should not replace** Total Weight Loss but may also be included in the text.

Data extending beyond 30 days **must include** lost to follow-up information in the Abstract and Results section, including all tables and figures, with the denominator provided as to how many patients were available at **each time point** and the number of patients actually seen.

4c. MANUSCRIPT SECTIONS AND FILE ITEMS

When you upload your manuscript documents to EM, the system will ask you to indicate the manuscript file "Item." Your manuscript should be submitted in various parts; for example, your blinded "Manuscript" should be uploaded separately from the "Title Page" and "Official Conflict of Interest Form." Images should be submitted separately, as should any electronic supplementary material (or "Other") and videos (either as supplementary videos or dedicated Multimedia Article).

Use the following text format guidelines.

- Use a normal, plain font (e.g., 12-point Times Roman) for text.
- Double-space the text and set page borders at one inch.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Use tab stops or other commands for indents; do not use the space bar for indents.

i. File Item: Title Page (required)

In the "File Upload" section of EM, your Title Page should be submitted separately from the blinded text of the manuscript, under the category, "Title Page." This page will not be seen by reviewers and should include the following:

- Complete title of the article and a shortened title (max 30 characters, including spaces). Complete names, titles, departments and institutional addresses of each contributing. "Correspondence to" followed by the name and contact information for the corresponding author.
- Any detailed grant information and an acknowledgment of grant support.
- Acknowledgments: Should only be included in the Title Page. List individuals other than authors who directly participated in the work. If any authors have contributed equally, you may include

the following statement: "Authors (name) and (name) have contributed equally to this work."

ii. File Item: Blinded Manuscript – Main Text (required)

In the "Attach Files" step (final step) of your submission, the "Manuscript" file should include the Main Text (which should include blinded statements regarding conflict of interest, consent and ethics), References, and Figure Legends (if any). Tables may also be included at the end of the text document or submitted separately.

The main text document should be double-spaced and for most submissions include: Abstract (required for all but Letters; optional for Brief Communications); Introduction/Purpose; Materials and Methods; Results; Conclusion; Blinded Conflict of Interest Disclosure Statement; Statements regarding ethics and consent (see details below); References (see details below); Tables, and any Figure Legends (if applicable). Additional format requirements and details for specific manuscript *types* are included in the "Manuscript Types and Formats" section below.

Conflict of Interest Disclosure, Ethical Statement and Consent Statement

Three required statements are required just before the list of References. For each author, the blinded COI statement must declare potential conflict of interest for each author ("author 1, author 2," etc.), or state, "no conflict of interest." For more information, refer to "Ethical Responsibilities of Authors" below.

References

- Use Medline®/Pubmed® Style. Visit the following website for sample references: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.
- Type references double-spaced; list them in consecutive, numerical order as they appear in the text.
- Identify reference citations in the text by numbers in square brackets (e.g., [1]). Once a reference is cited, all subsequent citations should be to the original number.
- Cite all references within the text or tables.
- Papers that have been accepted for publication or are in press may be listed in the References, however OBSU does not reference unpublished data or personal communications.

Tables

- Use the table function (not spreadsheets) to make tables.
- Number all tables using Arabic numerals.
- Always cite tables in the text in consecutive, numerical order.
- For each table, supply a title; it should explain clearly and concisely the components of the table.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.
- All tables should be on separate page(s) at the end of the main document and be cited in the text.

iii. File Item: Official Conflict of Interest Form – (required)

Every contributing author must electronically complete the official ICMJE Conflict of Interest (COI) form. Click on http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf to download a PDF of the form. During submission, please make sure that you upload all COI forms at the end of your submitted document list. If any author's COI form is missing from the submission, it will be returned to the author for correction prior to review. Each author must complete the form even if no conflict of interest exists. All details in the ICMJE COI forms must correspond with the COI Disclosure Statement included in the manuscript text. Reviewers will not see these forms.

Important Note: *If you have trouble viewing the ICMJE COI form after downloading it, make sure to open the PDF directly from your "downloads" folder via Adobe Reader rather than through your internet browser. Also, once uploaded to the submission site, the forms may not appear clearly in the PDF proof, depending on your browser. Please simply make sure that a completed form has been uploaded for each contributing author before you complete your submission.*

iv. File Item: Cover Letter (optional; non-blinded)
You may submit a non-blinded Cover Letter under this File Item, as well as any other non- blinded documents such as Permission documents or Language Editing certificates.

v. File Item: Figure / Image (optional; blinded for review)
Common graphics files such as GIF, JPEG, EPS, TIFF and many others are supported. *Do not upload figures as PDF files*.

All figures must be numbered using Arabic numerals. Figure parts should be denoted by lowercase letters. Figures should always be cited in text in consecutive numerical order. For each figure, include the figure legends at the end of the manuscript text. Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Photographs of patients in which the subject is identifiable must either have the face masked out, or be accompanied by written permission from the individual in the photograph for publication.

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format.

Vector Graphics: The preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable. Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Line Art: Must be black and white with no shading. Ensure that all lines and lettering within the figures are legible at final size. All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide. Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a min. resolution of 1200 dpi.

Halftone Art (photographs, drawings or paintings with fine shading, etc.): If magnification is used in photographs, indicate this by using scale bars within the figure. Halftones should have a minimum resolution of 33 dpi.

Combination Art (combination of halftone and line art): Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art: Color art is free of charge for online publication. If artwork is to be published in black and white, make sure that details are visible; many colors are not distinguishable when converted to black and white. You may choose to use patterns rather than colors in such instances. Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits/channel).

Lettering and Numbering in Figures: Helvetica and Arial (sans serif fonts) text are preferred. Keep lettering size consistent throughout (preferably 2-3 mm / 8-12 pt). Avoid shading and other text features, and do not include titles or captions within your figures.

vi. File Item: Multimedia Article (blinded for review)
A Multimedia Article submission consists of a dedicated video no more than 10 minutes in duration. Keep the video length / size as precise as possible, as some authors and reviewers may experience problems when uploading, downloading or viewing larger files, depending on server speed and other external factors.

Requirements for Multimedia Articles

- Multimedia Articles must be accompanied by a textual Abstract.
- Must use either .mp4 or .mov files.
- Video files must not exceed ten (10) minutes in length.
- For any Multimedia Article files larger than 500 MB, authors may upload compressed files (e.g., zip files), or submit in separate video sections.
- All narration must be in English.

vii. File Item: Dynamic (supplementary) Video
Dynamic Video files may be included as additional information that cannot be printed: animations, video clips, etc. If supplying a dynamic video file, the manuscript text must make specific mention

of the material as a citation (e.g., "as shown in Animation 3"). Keep the video length / size as precise as possible, as some authors and reviewers may experience problems when uploading, downloading or viewing larger files, depending on server speed and other external factors. Upon submission of articles that include video, the author(s) will be required to submit according to the following specifications.

Requirements for Dynamic Articles

- Video files should not exceed three (3) minutes in length.
- Always use either .mp4 or .mov files.
- All narration must be in English.

viii. File Item: Other (optional; blinded for review)

If your submission file does not fit any of the above file designations, you may submit as "Other," but any document submitted under this File Item must be blinded for review purposes and will be evaluated for appropriateness.

4d. MANUSCRIPT TYPES AND FORMATS

The manuscript types include Original Contributions, New Concepts, Review Articles, Brief Communications, Letters to the Editor, and Multimedia Articles. You may submit your manuscript either as Format I, II, or III (detailed in the table below). Each manuscript type requires a specific submission format. When required by the nature of the report, manuscripts that do not follow these formats may be considered. Please note that the page, word and figure limits shown in the table below should be used as a guideline rather than a rule; the editors and reviewers make the final evaluations. Please remain succinct in your wording.

MANUSCRIPT FORMATS The double-spaced page and word counts below are a *guideline* rather than a *rule*. Title Page, references, figures, legends, and tables are not considered in the page/word counts below.

FORMAT I	Description	Pp/Words	Main Text	Figures	COI Forms
Original Contribution	Paper involves clinical or basic science research	8pp /2400 words	• Title only • Structured Abstract,includes subheadings (250 words) • Key Words • Introduction/Purpose • Materials/ Methods/Results/ Conclusion • Blinded COI/Ethics/ ConsentStatements • References • Figure Legends (if any) • Tables (if any) • Supplementary video (if any)	Up to 6	Official ICMJE Conflict of Interest forms must be completed by each contributing author (these are not viewable in the PDF Proof or to reviewers) **http://www.icmje.org coi_disclosure.pdf**
New Concept	All innovative technologies, devices, procedures or treatment protocols; should include a detailed description of the procedure and the results.				

FORMAT II	Description	Pp/Words	Main Text	Figures	COI Forms
Review Article	A scholarly literature review of a current topic. May be solicited or unsolicited.	10pp/ 3000 words	• Title only • One-Paragraph Abstract(125 words) • Typically an invited submission; format varies based on topic. • Blinded COI/Ethics/ ConsentStatements • References • Figure Legends (if any)	Up to 6	Official ICMJE Conflict of Interest forms must be completed by each contributing author (these are not viewable in the PDF Proof or to reviewers) **http://www.icmje.org coi_disclosure.pdf**
Brief Communication	A short report that can present research, an innovated concept or procedure, or a small case series with important, but very straightforward results.	5pp / 1500 words	• Title only • One-Paragraph Abstract (Optional; 125 wds) • Intro /Methods /Results/ Conclusion • Blinded COI/Ethics/ ConsentStatements • Limit references to ten (10) • Figure Legends (if any)	Up to 2	
Letter to the Editor	A brief report, opinion or unstructured comment on a published paper. The editors reserve the right to accept, reject or excerpt letters without changing the views expressed by the author(s).	4pp/ 1200 words	• Title page and main textdo not need to be blinded. • No Abstract required • Unstructured • COI/Ethics/ ConsentStatements • Limited number of references	Up to 3	

FORMAT III	Description	Pp/Words	Main Text	Figures	COI Forms

Multimedia Article	Manuscripts submitted as dedicated Multimedia Articles must be accompanied by a textual Abstract that briefly describes the video	2pp / 500 words	• Textual Abstract includes blinded Title, Introduction, Materials/ Methods/ Results/ Conclusion/ Blinded Statements, Refs (if any) • Blinded video(s) in .mp4 or .mov format only; not to exceed 10 minutes, with narration in English.	N/A	Official ICMJE Conflict of Interest forms must be completed by each contributing author (these are not viewable in the PDF Proof or to reviewers) **http://www.icmje.org coi_disclosure.pdf**

4e. ADDITIONAL SUBMISSION DETAILS

i. Language Editing Services

Language Editing Services, when needed, can be acquired through the Springer author service http://authorservices.springernature.com/ .

ii. Special Characters

The Journal does not assume responsibility for errors in conversion of customized software, newly released software, or special characters. Indicate any special characters used in the file (e.g., Greek, math symbols) by providing a clarifying list of abbreviations at the end of your manuscript text.

iii. Abbreviations, Drug Names, Digits

Use the standard abbreviations and units listed in Scientific Style and Format: The CBE Manual for Authors, Editors, and Publishers, Sixth Edition (Reston, Va., Council of Biology Editors, 1994). The first time an uncommon abbreviation appears in the text, it should be preceded by the full name for which it stands. Generic names for drugs and chemicals should be used the first time the drug or chemical is mentioned in the text and, preferably, thereafter. If an author wishes, the trade name may be inserted in parentheses following the generic name the first time the generic name appears, and the manufacturer name and city should also be included. Express digits as numerals except when they are the first word in a sentence, and decimals should be written in North American format. Express units of measurement in the metric system whenever possible and abbreviate them when used with numbers.

5. ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to address potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results that could damage the trust in the journal and ultimately the entire scientific endeavor. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which includes: The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.

- The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling ("self-plagiarism")).
- A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. "salami-publishing").
- No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the authors own ("plagiarism"). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.
- Important note: note: the journal may use software to screen for plagiarism.
- Consent to submit has been received from all co-authors and responsible authorities at the institute/organization where the work has been carried out before the work is submitted.
- Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

4e. ADDITIONAL SUBMISSION DETAILS

i. Language Editing Services

Language Editing Services, when needed, can be acquired through the Springer author service http://authorservices.springernature.com/ .

ii. Special Characters

The Journal does not assume responsibility for errors in conversion of customized software, newly released software, or special characters. Indicate any special characters used in the file (e.g., Greek, math symbols) by providing a clarifying list of abbreviations at the end of your manuscript text.

iii. Abbreviations, Drug Names, Digits

Use the standard abbreviations and units listed in Scientific Style and Format: The CBE Manual for Authors, Editors, and Publishers, Sixth Edition (Reston, Va., Council of Biology Editors, 1994). The first time an uncommon abbreviation appears in the text, it should be preceded by the full name for which it stands. Generic names for drugs and chemicals should be used the first time the drug or chemical is mentioned in the text and, preferably, thereafter. If an author wishes, the trade name may be inserted in parentheses following the generic name the first time the generic name appears, and the manufacturer name and city should also be included. Express digits as numerals except when they are the first word in a sentence, and decimals should be written in North American format. Express units of measurement in the metric system whenever possible and abbreviate them when used with numbers.

5. ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to address potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results that could damage the trust in the journal and ultimately the entire scientific endeavor. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which includes: The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.

- The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling ("self-plagiarism")).
- A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. "salami-publishing").
- No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the authors own ("plagiarism"). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.
- Important note: note: the journal may use software to screen for plagiarism.
- Consent to submit has been received from all co-authors and responsible authorities at the institute/organization where the work has been carried out before the work is submitted.
- Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

In addition:

- Changes of authorship or in the order of authors are not accepted *after* manuscript acceptance.
- Requests to add or delete authors at revision are a serious matter and may be considered only after receipt of written approval from all co-authors and detailed explanation about the role/deletion of the new/deleted author. The "Authorship Change" form can be requested from the Editorial Office. The decision to accept the change(s) rests with the journal's Editor-in-Chief.
- Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc.
- If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been proven, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to:
  - If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.
  - If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note.
- The author's institution may be informed.

5a. DISCLOSURE OF POTENTIAL CONFLICT OF INTEREST

Authors must disclose all relationships or interests that could influence or bias the work. Although an author may not feel there are conflicts, disclosure of relationships and interests affords a more transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of real or perceived conflicts of interests is a perspective to which the readers are entitled and is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests *that are directly or indirectly related to the research* may include but are not limited to the following:

- Research grants from funding agencies (give the research funder and the grant number) Honoraria for speaking at symposia
- Financial support for attending symposia Financial support for educational programs Employment or consultation
- Support from a project sponsor
- Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships
- Multiple affiliations
- Financial relationships, for example equity ownership or investment interest Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights); holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors.

The corresponding author will include a blinded summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s). For review purposes, the affiliations may be identified, but the authors may not.

See below for examples of disclosures:

- **"Funding**: This study was funded by X (grant number X)."
- **"Conflict of Interest**: Author 1 has received research grants from Company A. Author 2 has received a speaker honorarium from Company B and owns stock in Company C. Author 3 is a member of committee D."

If no conflict exists, the authors should state:

- **"Conflict of Interest:** The authors declare that they have no conflict of interest."

5b. STATEMENT OF HUMAN AND ANIMAL RIGHTS

When reporting studies that involve human participants, authors should include a statement that the studies have been approved by the appropriate institutional and/or national research ethics committee and have been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the reasons for their approach, and demonstrate that the independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study.

The following statements should be included in the text before the References section:

i. Ethical Approval

"All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards."

The welfare of animals used for research must be respected. When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the institutional and/or national guidelines for the care and use of animals were followed.

For studies with animals, the following statement should be included:
"All applicable institutional and/or national guidelines for the care and use of animals were followed."

If articles do not contain studies with human participants or animals by any of the authors, Springer recommends including the following sentence:
"This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors."

For retrospective studies, add the following sentence: "For this type of study formal consent is not required."

ii. Informed Consent

All individuals have individual rights that are not to be infringed. Individual participants in studies have the right to decide what happens to the (identifiable) personal data gathered and to what they have said during a study or an interview as well as to any photograph that was taken. Hence it is important that all participants gave their informed consent in writing prior to inclusion in the study. Identifying details (names, dates of birth, identity numbers and other information) of the participants that were studied should not be published in written descriptions, photographs, and genetic profiles unless the information is essential for scientific purposes and the participant (or parent or guardian if the participant is incapable) has given written informed consent for publication. Complete anonymity is difficult to achieve in some cases, and informed consent should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of participants is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic profiles, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning.

The following statement should be included:
Informed consent: "Informed consent was obtained from all individual participants included in the study."

If identifying information about participants is available in the article, the following statement should also be included:
"Additional informed consent was obtained from all individual participants for whom identifying information is included in this article."

6. RESEARCH DATA POLICY

The OBSU journal encourages authors, where possible and applicable, to deposit data that support the findings of their research in a public repository. Authors and editors who do not have a preferred repository should consult Springer Nature's list of repositories and research data policy.

List of Repositories http://www.springernature.com/gp/authors/research-data-policy/repositories/12327124?countryChanged=true

Research Data Policy http://www.springernature.com/gp/authors/research-data-policy/faqs/12327154?countryChanged=true

General repositories - for all types of research data - such as figshare and Dryad may also be used. Datasets that are assigned digital object identifiers (DOIs) by a data repository may be cited in the reference list. Data citations should include the minimum information recommended by DataCite: authors, title, publisher (repository name), identifier.

DataCite
Springer Nature provides a research data policy support service for authors and editors, which can be contacted at researchdata@springernature.com.

This service provides advice on research data policy compliance and on finding research data repositories. It is independent of journal, book and conference proceedings editorial offices and does not advise on specific manuscripts.