

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Medicina

DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA (DHGNA) EM
PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2)

NATHALIE CARVALHO LEITE

Rio de Janeiro
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA
(DHGNA) EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO
2 (DM2)

Nathalie Carvalho Leite

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Clínica Médica).

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Cláudia Regina Lopes Cardoso
Prof^a. Dr^a. Cristiane Alves Villela Nogueira
Prof. Dr. Gil Fernando da Costa Mendes de Salles

Rio de Janeiro
Março/2010

Leite, Nathalie Carvalho

Doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) / Nathalie Carvalho Leite – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2010.

xv, 153 f. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Cláudia Regina Lopes Cardoso, Cristiane Alves Villela Nogueira e Gil Fernando da Costa Mendes de Salles

Tese (Doutorado) – UFRJ / Faculdade de Medicina / Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, 2010.

Referências Bibliográficas: f. 118-134

1. Diabetes Mellitus Tipo 2. 2. Esteatose hepática. 3. Fibrose hepática. 4. Biópsia. 5. Clínica Médica – Tese. I. Cardoso, Cláudia Regina Lopes. II. Nogueira, Cristiane Alves Villela. III. Salles, Gil Fernando da Costa Mendes. IV. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Faculdade de Medicina, Clínica Médica. V. Título.

DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA (DHGNA) EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2)

Nathalie Carvalho Leite

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Cláudia Regina Lopes Cardoso
Prof^a. Dr^a. Cristiane Alves Villela Nogueira
Prof. Dr. Gil Fernando da Costa Mendes de Salles

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Clínica Médica)

Aprovada por:

Presidente, Prof^a. Dr^a.

Prof. Dr.

Prof^a. Dr^a.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Rio de Janeiro
Março/2010

*Aos meus queridos pais,
que me ensinaram a transformar as
formas indefinidas dos nossos sonhos em
movimentos reais de esforço e vontade.*

*E aos meus filhos Tathiana e Alexandre,
que são os meus melhores sonhos.*

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina e ao Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela minha formação médica.

Às alunas da graduação Sissi Monteiro e Syssa Alves, pela colaboração na coleta de dados e acompanhamento dos pacientes.

Aos médicos Antônio Eiras e Anderson Sales, pela competência e disponibilidade em realizar os exames radiológicos além do horário programado para o atendimento de pacientes do HUCFF.

Ao professor Guilherme Rezende e à equipe de médicos, pós-graduandos e residentes, pela responsabilidade e habilidade na realização da biópsia hepática e no acompanhamento dos nossos pacientes antes e depois do procedimento.

Às professoras Vera Pannain e Adriana Bottino, pela análise histológica de todos os pacientes incluídos no estudo.

Aos médicos e às enfermeiras do ambulatório de Clínica Médica-Diabetes Mellitus, pelo trabalho em equipe e pelo empenho em aprimorar o acompanhamento e o tratamento dos pacientes diabéticos.

A Ana Grillo, pela experiência e dedicação na revisão do texto desta dissertação.

A Wilma Alves, pelo esforço e a presteza com que trabalhou para a formatação final da tese.

Aos amigos dos serviços de clínica médica e de hepatologia pelo companheirismo e compreensão, em especial no período de finalização do trabalho.

Ao chefe e amigo Carlos Henrique, por valorizar a importância do crescimento de cada profissional sem perder a visão de unidade e de prioridades para o serviço de clínica médica.

Ao querido Henrique Sérgio, mestre de verdade, que nunca deixou que a busca incessante de conhecimentos apagasse a sua sabedoria e sua simplicidade. Seu carinho e apoio foram sempre muito importantes.

Aos meus orientadores Cláudia Cardoso, Cristiane Villela e Gil Salles, pela competência, incentivo e paciência inesgotáveis. Agradeço especialmente a amizade e o apoio que deles recebi nos momentos mais difíceis durante o período em que trabalhamos juntos.

RESUMO

PREVALÊNCIA DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA (DHGNA) EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2)

Nathalie Carvalho Leite

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Cláudia Regina Lopes Cardoso
Prof^a. Dr^a. Cristiane Alves Villela Nogueira
Prof. Dr. Gil Fernando da Costa Mendes de Salles

Resumo da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Clínica Médica).

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é um fator de risco para a doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA), porém não está estabelecida a prevalência de DHGNA nesta população. Os objetivos deste estudo foram avaliar a prevalência da DHGNA em pacientes com DM2 e identificar as variáveis clínico-demográficas e laboratoriais que se associam com os estágios evolutivos da DHGNA. Foram incluídos pacientes entre 18 e 65 anos e excluídos pacientes com ingestão alcoólica, infecção por vírus e uso de medicamentos que poderiam causar esteatose hepática. Dados sociodemográficos, clínicos, laboratoriais e ultrassonográficos foram obtidos. Os critérios para a indicação da biópsia hepática (BH) eram esteatose à ultrasonografia ou elevação de ALT e/ou AST acima do normal. As lâminas foram avaliadas por dois patologistas e a classificação utilizada foi a de Kleiner e cols. Quando a concordância entre os patologistas foi inferior à substancial para um parâmetro histológico utilizamos a análise com o pior e o melhor diagnóstico. Foram realizadas comparações bivariadas entre os subgrupos (teste t, Man-Whitney, qui-quadrado) e regressão logística múltipla para fatores associados com esteato-hepatite e fibrose moderada/grave. A concordância interobservador foi avaliada pelo coeficiente de Kappa. Dos 272 pacientes, 12 (4%) tinham sinais de hepatopatia crônica e 189 (69%) apenas esteatose à ultrasonografia. Dentre 92 pacientes com BH, cinco (6%) apresentavam esteatose, 69 (75%) esteato-hepatite e três (3%) cirrose. A fibrose moderada/acentuada esteve presente em 31(34%) pacientes no melhor e 55(60%) no pior escore. Houve associação independente dos níveis de ALT (RC: 1,05, IC 95%: 1,0-1,10), de HDL-colesterol (RC: 0,94, IC 95%: 0,89-0,99) e de hipertrigliceridemia (RC: 3,94, IC 95%:1,11-14,04) com esteato-hepatite. Os níveis de Gama-GT (RC: 1,04, IC 95%: 1,01-1,06) associaram-se independentemente com a presença de fibrose moderada/acentuada, considerando tanto o pior como o melhor escore. A prevalência de DHGNA é elevada em pacientes com DM2, com maior frequência de formas graves na histopatologia. Não

houve associação com parâmetros de controle glicêmico ou complicações degenerativas com esteato-hepatite e fibrose.

Palavras-chave: Diabetes mellitus tipo 2; esteatose hepática; fibrose hepática; biópsia; clínica Médica.

ABSTRACT

PREVALENCE OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Nathalie Carvalho Leite

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Cláudia Regina Lopes Cardoso
Prof^a. Dr^a. Cristiane Alves Villela Nogueira
Prof. Dr. Gil Fernando da Costa Mendes de Salles

Abstract da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Clínica Médica).

Increasing evidence suggests that patients with diabetes mellitus type 2 (DM2) are at a particularly high risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Currently, data regarding the prevalence of NAFLD diabetic patients are still scarce. The aim of this study is to evaluate the prevalence of NAFLD in patients with DM2 and to identify the related factors with non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis. Type 2 diabetic patients aged 18 to 65 years were submitted to a complete clinical and laboratory evaluation and abdominal ultrasonography for NAFLD detection and grading. Exclusion criteria were alcohol consumption, virus infections and well-known drugs related to steatosis. Those with an abnormal aminotransferases levels or steatosis on US were submitted to percutaneous liver biopsy. The biopsies were scored in a blinded manner employing Kleiner classification by two experienced pathologists. Interobserver agreement was assessed by Kappa coefficient. When the agreement between the pathologists was less than substantial for a histological parameter, we analyzed the worst and the best diagnosis. Bivariate comparisons were made between groups (t test, Mann Whitney test, chi-square) and a logistic regression model for independent factors with steatohepatitis and moderate/ severe fibrosis was performed. Among 272 patients 12 (4%) had ultrasonographic findings suggestive of chronic hepatic disease and 189 (69%) had some degree of steatosis. Among the 92 patients who underwent liver biopsy, 5 (6%) had steatosis, 69 (75%) had steatohepatitis and 3 (3%) had cirrhosis. Moderate/severe fibrosis was present in 31(34%) patients in the best histological score and in 55(60%) patients in the worst histological score. Hypertriglyceridemia (OR: 3.94, 95% CI: 1.11-14.04), low HDL levels (OR: 0.94, 95% CI: 0.89-0.99), and high ALT levels (OR: 1.05, 95% CI: 1.0-1.10) were independently associated with steatohepatitis. Gamma-GT levels (OR: 1.04, 95% CI: 1.01-1.06) were independently associated with the presence of moderate/severe fibrosis considering both the worst and the best score. Conclusions: NAFLD and its progressive form (steatohepatitis and fibrosis) are highly prevalent in type 2 diabetic patients. Steatohepatitis and fibrosis were not associated with neither

glycemic control, diabetes duration nor with micro and macrovascular complications of diabetes.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus; fatty liver; liver fibrosis; liver biopsy; internal medicine.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	XI
LISTA DE ILUSTRAÇÕES, DE QUADROS E DE TABELAS	XII
1 INTRODUÇÃO	1
2 JUSTIFICATIVA.....	3
3 OBJETIVOS	4
4 REVISÃO DA LITERATURA	5
4.1 DM tipo 2: impacto de sua prevalência crescente e de suas complicações	5
4.2 DHGNA: Histórico	6
4.3 DHGNA: Patogênese.....	7
4.4 DHGNA: Epidemiologia	11
4.5 DHGNA: Condições clínicas associadas	13
4.6 DHGNA: Diagnóstico	21
4.7 DHGNA: Histologia	30
4.8 DHGNA: História natural, evolução, mortalidade e complicações ligadas à doença hepática crônica	36
4.9 DHGNA: Risco de complicações cardiovasculares	40
4.10 DHGNA: Diagnóstico não invasivo de esteato-hepatite e fibrose avançada.....	41
4.11 DHGNA: Tratamento	44
5 PACIENTES E MÉTODOS	50
5.1 Local do estudo.....	50
5.2 Desenho do estudo.....	50
5.2.1 Pacientes.....	50
5.2.2 Variáveis sociodemográficas	52
5.2.3 Medidas antropométricas	53
5.2.4 Dados clínicos	53
5.2.5 Variáveis laboratoriais	55
5.2.6 Ultrassonografia	57
5.2.7 Biópsia hepática	58
5.3 Cálculo amostral e análise estatística.....	60
6 RESULTADOS	62
6.1 Análise descritiva dos pacientes incluídos no estudo	63
6.2 Avaliação ultrassonográfica dos pacientes incluídos no estudo	67
6.3 Análise comparativa de acordo com a presença de esteatose a US.....	67

6.4	Análise comparativa de acordo com a realização ou não de BH.....	73
6.5	Análise descritiva dos pacientes submetidos a BH.....	76
6.6	Tamanho do fragmento e efeitos adversos da BH.....	81
6.7	Avaliação histopatológica dos pacientes incluídos no estudo	81
6.8	Análise comparativa de acordo com a presença de esteato-hepatite	83
6.9	Análise comparativa de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada	87
6.10	Análise comparativa de acordo com a presença de fibrose avançada pela US e BH	95
6.11	Variáveis associadas de forma independente com a presença de esteato-hepatite e fibrose.....	99
7	DISCUSSÃO	101
8	CONCLUSÕES	119
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	120
	ANEXOS.....	138

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
BH	Biópsia hepática
CA	Circunferência abdominal
CEP	Comissão de Ética em Pesquisa
DHGNA	Doença hepática gordurosa não-alcoólica
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
EH	Esteato-hepatite
EHNA	Esteato-hepatite não-alcoólica
ECA	Enzima conversora de angiotensina
Gama-GT	Gama glutamiltransferase
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HUCFF	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
IC	Intervalo de confiança
IMC	Índice de massa corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NAS	Escore de atividade da esteato-hepatite
NCEP - ATPIII	National Cholesterol Education Program- Adult Treatment Panel III
NHANES III	National Health and Nutrition Examination Survey III
NIH	National Institutes of Health
PPARγ	Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama
TNF alfa	Fator de necrose tumoral alfa
TSH	Hormônio estimulante da tireoide
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
US	Ultrassonografia
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, DE QUADROS E DE TABELAS

Figura 1	Algoritmo do estudo	63
Figura 2	Avaliação histológica dos pacientes diabéticos submetidos à biópsia hepática (n=92).....	82
Gráfico 1	Comparação do índice de massa corporal (IMC) de acordo com o grau de esteatose a US.....	71
Gráfico 2	Comparação dos valores de circunferência abdominal (CA) de acordo com o grau de esteatose a US.....	72
Gráfico 3	Comparação dos valores de triglicerídeos de acordo com o grau de esteatose a US.....	72
Quadro 1	Concordância interexaminador para a presença e quantificação da esteatose (n=37).....	67
Quadro 2	Concordância interexaminador para as variáveis histológicas (n=92).....	82
Tabela 1	Características sociodemográficas dos pacientes diabéticos incluídos no estudo (n=272).....	64
Tabela 2	Medidas antropométricas dos pacientes diabéticos incluídos no estudo (n=272).....	64
Tabela 3	Condições clínicas associadas dos pacientes diabéticos incluídos no estudo (n=272).....	65
Tabela 4	Dados clínicos relacionados ao DM nos pacientes incluídos no estudo (n=272).....	65

Tabela 5	Características laboratoriais dos pacientes diabéticos incluídos no estudo (n=272).....	66
Tabela 6	Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de esteatose (n=260).....	68
Tabela 7	Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de esteatose (n=260).....	68
Tabela 8	Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de esteatose (n=260).....	69
Tabela 9	Análise comparativa dos dados clínicos relacionados ao DM de acordo com a presença de esteatose (n=260).....	69
Tabela 10	Análise comparativa das variáveis laboratoriais de acordo com a presença de esteatose (n=260).....	70
Tabela 11	Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – variáveis sociodemográficas	74
Tabela 12	Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – variáveis antropométricas	74
Tabela 13	Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – condições clínicas associadas	75
Tabela 14	Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – variáveis relacionadas ao diabetes	75
Tabela 15	Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – variáveis laboratoriais e ultrassonográficas.....	76
Tabela 16	Características sociodemográficas dos pacientes diabéticos submetidos a BH (n=92)	77
Tabela 17	Medidas antropométricas dos pacientes diabéticos submetidos a BH (n=92).....	78
Tabela 18	Condições clínicas associadas dos pacientes diabéticos submetidos a BH (n=92)	78
Tabela 19	Dados clínicos relacionados ao DM nos pacientes submetidos a BH (n=92).....	79
Tabela 20	Características laboratoriais e ultrassonográficas dos pacientes diabéticos submetidos a BH (n=92)	80
Tabela 21	Variáveis histológicas em que não houve concordância substancial interexaminador (n=92)	83

Tabela 22	Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92).....	84
Tabela 23	Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92).....	84
Tabela 24	Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92).....	85
Tabela 25	Análise comparativa dos dados relacionados ao DM de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92).....	85
Tabela 26	Análise comparativa das variáveis laboratoriais e ultrassonográficas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92).....	86
Tabela 27	Análise comparativa das variáveis histológicas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92)	87
Tabela 28	Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)	87
Tabela 29	Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)	88
Tabela 30	Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)	88
Tabela 31	Análise comparativa dos dados relacionados ao DM de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)	89
Tabela 32	Análise comparativa das variáveis laboratoriais de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92).....	90
Tabela 33	Análise comparativa das variáveis histológicas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92).....	91
Tabela 34	Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92)	91
Tabela 35	Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92).....	92

Tabela 36	Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92).....	92
Tabela 37	Análise comparativa dos dados relacionados ao DM de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92).....	93
Tabela 38	Análise comparativa das variáveis laboratoriais de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92).....	94
Tabela 39	Análise comparativa das variáveis histopatológicas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92).....	95
Tabela 40	Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100).....	96
Tabela 41	Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100).....	96
Tabela 42	Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100).....	97
Tabela 43	Análise comparativa dos dados relacionados ao DM de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100).....	97
Tabela 44	Análise comparativa das variáveis laboratoriais e ultrassonográficas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100).....	98
Tabela 45	Regressão logística multivariada para variáveis associadas de forma independente com a presença de esteato-hepatite na BH (variável dependente).....	100
Tabela 46	Regressão logística multivariada para variáveis associadas de forma independente com a presença de fibrose moderada/acentuada na BH (variável dependente).....	100

1 INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) vem ganhando destaque nos últimos anos e é hoje considerada a hepatopatia mais comum nos Estados Unidos, acometendo cerca de 1/3 da população (Angulo, 2002). A patogênese consiste em múltiplos mecanismos, envolvendo resistência a insulina, aumento do estresse oxidativo, liberação de citocinas inflamatórias e apoptose celular. A DHGNA é em geral assintomática e o diagnóstico é estabelecido por alterações nos valores de aminotransferases ou estudos radiológicos demonstrando a presença de esteatose. A biópsia hepática ainda é o único método capaz de definir a presença e estimar o prognóstico da DHGNA. A DHGNA tem um amplo espectro, que vai da esteatose até a cirrose. A presença de esteatose isolada confere baixo risco de progressão para cirrose e a maior preocupação reside no risco de condições cardiovasculares associadas. Em contrapartida, a esteato-hepatite pode evoluir para cirrose em 15 a 20% dos casos. Pacientes com esteato-hepatite são os maiores candidatos a estudos de intervenção terapêutica para prevenir progressão da fibrose. Uma vez estabelecida a cirrose, ela tem prognóstico semelhante àquela de outras etiologias, com mortalidade de até 40% em 10 anos (Yatsuji *et al.*, 2009). Com aumento da prevalência da DHGNA, estima-se que ela será a principal indicação de transplante hepático nos próximos 10 a 20 anos (Koehler *et al.*, 2009).

Além da obesidade, a presença de diabetes mellitus (DM) é um fator de risco para presença de DHGNA, inclusive com formas mais graves de lesão histopatológica (Angulo *et al.*, 1999; Dixon *et al.*, 2001; Guha *et al.*, 2006). A prevalência de DM, em especial do DM2 vem aumentando exponencialmente em

todo o mundo e este fato será responsável por um número crescente de indivíduos com risco de desenvolver doença hepática crônica nas próximas décadas. Há relato de mortalidade elevada em diabéticos por doença hepática, inclusive com predisposição ao carcinoma hepatocelular (Muggeo *et al.*, 1995; Adams *et al.*, 2005a; Ong *et al.*, 2008; Rafiq *et al.*, 2008).

Há incertezas na literatura em relação aos mecanismos que predisõem às formas mais graves de apresentação histopatológica da DHGNA em pacientes diabéticos. Tanto o aumento da prevalência como o seu potencial evolutivo em pacientes com DM2 vêm despertando grande interesse na comunidade científica. As estratégias futuras concentram-se em identificar os fatores preditivos de progressão e as medidas de intervenção que modifiquem o curso da DHGNA em pacientes diabéticos.

2 JUSTIFICATIVA

No Brasil, o diabetes mellitus é um problema de saúde pública que afeta a qualidade e a expectativa de vida de seus portadores. As complicações cardiovasculares são as principais causas de morbidade e mortalidade nos pacientes diabéticos (Muggeo *et al.*, 1995; Morrish *et al.*, 2001; Roper *et al.*, 2002), mas há relatos de mortalidade elevada em diabéticos por doença hepática (Muggeo *et al.*, 1995; Adams *et al.*, 2005a; Ong *et al.*, 2008; Rafiq *et al.*, 2008).

Como a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) está associada à resistência a insulina, esta condição possivelmente é a responsável – ou pelo menos um fator coadjuvante – nos casos de hepatopatia crônica em pacientes diabéticos.

Há evidências na literatura da importância do DM na epidemiologia da DHGNA. Entretanto, poucos estudos avaliaram a presença e as formas de apresentação histopatológica da DHGNA em pacientes com DM2.

3 OBJETIVOS

1. Avaliar a prevalência da doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) pela ultrassonografia abdominal em uma coorte de pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2).
2. Avaliar a prevalência de esteato-hepatite e o estadiamento da fibrose em pacientes com DM2 com achados ultrassonográficos de esteatose e/ou elevação de aminotransferases.
3. Identificar as variáveis clínico-demográficas e laboratoriais que se associam com a presença e os estágios evolutivos da DHGNA.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 DM tipo 2: impacto de sua prevalência crescente e de suas complicações

Diabetes mellitus (DM) compreende um grupo de desordens metabólicas que resultam em hiperglicemia, causada por defeitos na secreção de insulina e/ou em sua ação. O DM pode ser classificado de acordo com defeitos genéticos específicos, alterações na secreção e ação da insulina e outras causas. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2), caracterizado por maior resistência à insulina com resposta secretória inadequada, é a forma mais frequente (90 a 95% dos casos). A idade de início do DM2 é variável, embora seja mais freqüente após os 40 anos de idade, com pico de incidência ao redor dos 60 anos (Oliveira *et al.*, 1996). A ocorrência de agregação familiar é mais comum no DM tipo 2 do que no tipo 1. Fatores relacionados ao estilo de vida são os principais responsáveis por acelerar o desenvolvimento de DM2 em indivíduos com predisposição genética. A sua prevalência vem aumentando exponencialmente, e segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2030 serão mais de 300 milhões de indivíduos com DM em todo o mundo (Wild *et al.*, 2004). No Brasil, de acordo com o último Censo Nacional de Diabetes (Ministério da Saúde), no período de novembro de 1986 a julho de 1988, a prevalência era de 7,6% na faixa etária de 30 a 69 anos. Complicações macro e microvasculares podem surgir ao longo dos anos, reduzindo a qualidade e a expectativa de vida do paciente portador de DM. É a principal causa de falência renal terminal, cegueira e amputações, acarretando enormes custos e grande

impacto funcional.

A mortalidade global é elevada em pacientes com DM2, sendo duas a três vezes maior do que a de indivíduos sem DM (Salles *et al.*, 2004; Cardoso e Salles, 2007). As complicações cardiovasculares e infecciosas são as maiores responsáveis pela morbidade e mortalidade nos pacientes diabéticos (Muggeo *et al.*, 1995; Morrish *et al.*, 2001; Roper *et al.*, 2002), mas há relatos de mortalidade elevada em diabéticos por doença hepática (Muggeo *et al.*, 1995; Adams *et al.*, 2005a; Ong *et al.*, 2008; Rafiq *et al.*, 2008). A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) está associada à resistência a insulina e é responsável ou pelo menos um fator coadjuvante nos casos de hepatopatia crônica e carcinoma hepatocelular em pacientes diabéticos.

4.2 DHGNA: Histórico

A DHGNA não é uma condição recente, visto que na década de 1950 já haviam sido descritos casos de hepatopatia em indivíduos obesos (Westwater e Fainer, 1958). Em 1980, Ludwig e cols. encontraram – em 20 biópsias de pacientes com obesidade, sobrepeso e sem ingestão alcoólica – uma entidade com alterações histológicas compatíveis com hepatopatia alcoólica que denominaram de esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) (Ludwig *et al.*, 1980). Mais tarde essa entidade passou a ser conhecida por DHGNA, pois na verdade compreende um amplo espectro que vai desde a esteatose, passando pela esteato-hepatite (EH), podendo progredir para cirrose e até carcinoma hepatocelular. Mais recentemente vem sendo preconizada a nomenclatura de esteatopatia metabólica (Ratziu e Poynard, 2005). Esteatopatia por contemplar o seu amplo espectro histológico, e metabólica por sua

associação com fatores de risco de origem metabólica, cujo mecanismo fisiopatológico comum é a resistência a insulina.

4.3 DHGNA: Patogênese

A insulina reduz os níveis de glicemia, favorecendo a utilização de glicose pelo músculo e reduzindo sua produção e liberação pelo fígado. No metabolismo lipídico, a insulina promove o armazenamento de triglicerídeos no tecido adiposo e reduz a liberação dos ácidos graxos livres para a circulação sanguínea. A resistência à insulina, que tem papel central no desenvolvimento da DHGNA, leva a efeitos contrários no metabolismo de carboidratos e lipídios. A resistência a insulina decorre da redução da ação da insulina em vários órgãos e tecidos.

A resistência à ação da insulina no tecido adiposo (principalmente do tecido adiposo visceral) e o aumento da oferta pela dieta leva a um nível elevado de ácidos graxos na circulação sanguínea, com subsequente acúmulo e toxicidade nos músculos, fígado e células β do pâncreas. A lipotoxicidade parece ser o elo entre as anormalidades estruturais e funcionais encontradas nestes e em outros tecidos (por exemplo: endotélio vascular e miocárdio). O insulto dependerá da adaptação exclusiva de cada tecido, mas também de respostas idênticas ao estresse celular: peroxidação lipídica, estresse do retículo endotelial, disfunção mitocondrial, geração de substâncias oxidantes, alteração de membranas lisossômicas, ativação de proteínas-quinases e de vias inflamatórias (Cusi, 2009).

Em condições normais, o fígado se defende do excesso de ácidos graxos pela esterificação e formação de triglicerídeos, oxidação mitocondrial ou pela síntese e liberação de VLDL. A esteatose hepática se forma quando os mecanismos de

degradação não conseguem compensar a captação e síntese de ácidos graxos. Níveis exagerados de ácidos graxos no fígado, além de substrato para síntese de triglicerídeos, têm outros efeitos deletérios: interferem com a resposta à insulina com subsequente inibição do ciclo de Krebs e estimulação da gliconeogênese; aumentam o estresse oxidativo; levam a peroxidação de lipídios, com acometimento de membranas plasmáticas e organelas intracelulares (Sanyal, 2005).

Independentemente das alterações no metabolismo lipídico, a resistência à insulina leva a hiperglicemia pelo aumento da gliconeogênese e glicogenólise hepática e redução da captação no músculo estriado. Em resposta à hiperglicemia e ao nível elevado de ácidos graxos circulantes, as células β do pâncreas aumentam a sua produção de insulina, e esse processo continua até que o aumento do suprimento de insulina não é mais capaz de superar a redução de sua ação. Além disso, há declínio da secreção de insulina pelas células β do pâncreas. Embora a falência das células β seja multifatorial, a exposição crônica a níveis elevados de ácidos graxos parece ter importância no aparecimento de DM2 em indivíduos com predisposição genética (Paolisso *et al.*, 1995; Charles *et al.*, 1997; Edelstein *et al.*, 1997).

O estado de hiperinsulinemia reduz a sua própria ação ao nível de seus receptores no músculo e no fígado. Em nível molecular, tanto a hiperinsulinemia como a hiperglicemia induzem a lipogênese hepática, agravando a esteatose hepática. A lipogênese hepática contribui com pequena parcela na síntese de triglicerídeos hepáticos, sendo que a grande maioria decorre da oferta dos ácidos graxos oriundos do tecido adiposo (Donnelly *et al.*, 2005).

A oxidação dos ácidos graxos ocorre tanto na mitocôndria como em peroxissomos e microsomos. Nesse processo são produzidas substâncias

oxidantes, levando a um aumento desproporcional do potencial oxidativo nos hepatócitos. A produção desses radicais livres induz a: peroxidação lipídica e subsequente dano de membranas plasmáticas e organelas intracelulares; alterações na expressão de proteínas na membrana celular, que determinam apoptose celular; disfunção mitocondrial, com geração de maior quantidade de radicais livres (Sanyal, 2005).

O perfil de liberação de altos níveis de fator de necrose tumoral (TNF alfa) e reduzidos níveis de adiponectina pelo tecido adiposo visceral favorecem a resistência a insulina. O TNF alfa ativa proteínas cinases que modificam os receptores intracelulares de insulina, diminuindo a ligação da mesma com seu receptor. A ativação dessas mesmas proteínas aumenta a produção de TNF alfa, perpetuando níveis elevados desta citocina e resistência à insulina. Níveis elevados de TNF alfa promovem disfunção mitocondrial com maior produção de radicais livres e alterações celulares que desencadeiam a morte celular. Por outro lado, a apoptose celular serve como sinal para recrutamento de células inflamatórias e liberação de TNF alfa (Syn *et al.*, 2009).

Por fim, tanto o aumento de citocinas inflamatórias como a apoptose celular estimulam a fibrogênese hepática, através da liberação de citocinas pró-fibrogênicas (TGF beta e IL13) e ativação de células estreladas (Syn *et al.*, 2009).

As taxas de morte e redução da proliferação de hepatócitos maduros cedem lugar à expansão de células progenitoras. Esse processo pode explicar a tendência ao aparecimento de carcinoma hepatocelular em pacientes com esteato-hepatite, mesmo na ausência de cirrose hepática (Ratziu e Poynard, 2005).

Para fins didáticos, a patogênese da DHGNA foi inicialmente dividida em duas etapas (*two-hit hypothesis*). Na primeira destacava-se a resistência a insulina,

levando a esteatose hepática. Na segunda, em decorrência de insultos adicionais, predominavam o aumento do estresse oxidativo e a liberação de citocinas. Esses mecanismos levariam ao acúmulo de células inflamatórias, disfunção mitocondrial com maior produção de substâncias oxidantes e subsequente apoptose e necrose celular. Os eventos então descritos na segunda etapa justificariam as alterações inflamatórias e degeneração hepatocelular encontradas na esteato-hepatite. Na verdade, esta segunda etapa engloba muitos possíveis mecanismos, incluindo outros que vêm sendo recentemente estudados: excesso de endotoxinas (Sabate *et al.*, 2008), níveis elevados da proteína ligadora do retinol (Petta *et al.*, 2008), redução dos níveis de sulfato de dehidroepiandrosterona (Charlton *et al.*, 2008), redução dos níveis de vitamina D (Targher *et al.*, 2007), papel do sistema renina-angiotensina (Yokohama *et al.*, 2004), dos receptores canabinoides (Woods, 2007) e serotoninérgicos (Nocito *et al.*, 2007).

Embora a teoria das duas ou múltiplas etapas nos pareça muito provável, não há evidências na literatura que garantam a sequência de eventos da esteatose para esteato-hepatite. É possível que os mesmos mecanismos sejam responsáveis tanto pela esteatose como pela esteato-hepatite, e que indivíduos com predisposição genética sigam diretamente para esteato-hepatite sem passar pela esteatose (Petta *et al.*, 2009).

Considerando a complexidade dos mecanismos envolvidos na patogênese da DHGNA, dificilmente um único gene seria identificado como responsável por esta patologia. Estudos vêm demonstrando associação de esteatose e esteato-hepatite com polimorfismos em genes implicados no acúmulo de gordura hepática, na produção de adipocinas e citocinas, na gênese da fibrose e estresse oxidativo (Namikawa *et al.*, 2004; Gambino *et al.*, 2007; Wilfred de Alwis e Day, 2007; Miele *et*

al., 2008; Musso *et al.*, 2008; Romeo *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010).

4.4 DHGNA: Epidemiologia

A DHGNA vem ganhando destaque nos últimos 30 anos e é hoje considerada a hepatopatia crônica mais comum nos EUA. Em geral, a prevalência de DHGNA em ocidentais varia entre 20% e 30%, enquanto em asiáticos é de 15%. Como para a definição de esteato-hepatite há necessidade de BH, poucos estudos avaliaram a sua prevalência na população geral. Estima-se que sua prevalência varie entre 2% e 3%. Também não conhecemos a incidência de DHGNA e esteato-hepatite pela falta de estudos prospectivos, incluindo avaliação histológica.

Estudos populacionais encontraram prevalências da DHGNA entre 2,8% e 23%, utilizando dosagens séricas de enzimas hepáticas ou ultrassonografia (US) abdominal (Clark *et al.*, 2002; Ruhl e Everhart, 2003). A prevalência de DHGNA tem sido estudada também em séries de autópsias, porém em alguns dessas séries esta prevalência pode ter sido superestimada pelo aparecimento da esteatose secundária aos eventos terminais. Num estudo *post-mortem* em 351 pacientes sem história de consumo excessivo de álcool, 36% dos magros e 72% dos obesos tinham esteatose (Wanless e Lentz, 1990). Já em séries de autópsias cuja *causa mortis* foi acidental, as prevalências de esteatose foram de 13 a 24%, semelhantes às obtidas nos estudos com métodos de imagem (Hilden *et al.*, 1977; Ground, 1982; Underwood Ground, 1984).

A prevalência de DHGNA parece aumentar com a idade (Hilden *et al.*, 1977; Browning *et al.*, 2004) e faixas etárias maiores constituem fator de risco para fibrose e cirrose (Bacon *et al.*, 1994; Angulo *et al.*, 1999). Uma pesquisa do National Health

and Nutrition Examination Survey (NHANES) revelou que a DHGNA ocorre mais cedo nos homens (quarta década) do que nas mulheres (sexta década) (Clark *et al.*, 2003) mas pode ocorrer em qualquer idade, havendo relato de prevalência elevada em crianças e adolescentes acompanhando o crescente aumento da obesidade na população pediátrica (Franzese *et al.*, 1997; Chan *et al.*, 2004). A prevalência de DHGNA na população pediátrica variou entre 2,6 e 17,3% em diferentes estudos, dependendo do método utilizado para a definição dos casos, da prevalência de obesidade e da faixa etária da população estudada (Argo e Caldwell, 2009).

O que é alarmante é que a maior parte dessas crianças e adolescentes vai persistir com sobrepeso e obesidade na vida adulta, com risco de progressão para formas mais graves da DHGNA.

Nos primeiros estudos epidemiológicos havia uma predominância do sexo feminino, porém estudos mais recentes demonstraram maior prevalência nos indivíduos do sexo masculino, inclusive em crianças (Lee, 1989; Powell *et al.*, 1990; George *et al.*, 1998). Uma possível justificativa para essa diferença seria porque as mulheres têm menor depósito de gordura visceral que os homens (Enzi *et al.*, 1986; Lemieux *et al.*, 1993).

A frequência de esteatose hepática também depende dos grupos populacionais estudados. Browning e cols. encontraram menores prevalências de esteatose em americanos de origem africana do que em brancos não hispânicos e hispânicos, mesmo ajustando para presença de obesidade e DM2 (Browning *et al.*, 2004). Outros estudos também encontraram maior prevalência de DHGNA em hispânicos do que em brancos não hispânicos e americanos de origem africana (Weston *et al.*, 2005). Num estudo recente, Guerrero e cols. encontraram variação étnica na associação da resistência a insulina com esteatose hepática. Pacientes de

origem hispânica apresentaram maior quantidade de gordura intraperitoneal, intra-hepática e triglicerídeos séricos do que americanos de origem africana, apesar de apresentarem níveis semelhantes de resistência a insulina. Mohanty e cols. avaliaram a influência racial na apresentação histológica de pacientes com DHGNA. Eles encontraram menores proporções de esteatose acentuada em americanos de origem africana e maiores prevalências de cirrose nos de origem hispânica (Mohanty *et al.*, 2009). Polimorfismos genéticos podem ser os responsáveis pela variação étnica na prevalência e gravidade da DHGNA. Romeo e cols. demonstraram que homozigotos para polimorfismo numa fosfolipase expressa na membrana de hepatócitos apresentavam maior frequência de esteatose e lesão celular. E este polimorfismo é mais encontrado nos americanos de origem hispânica do que nos de origem africana (Romeo *et al.*, 2008).

4.5 DHGNA: Condições clínicas associadas

Segundo dados da OMS, em todo o mundo 1 bilhão de pessoas apresentam sobrepeso e 300 milhões são obesas (Rafiq e Younossi, 2008).

Vivemos num paradoxo, já que mais indivíduos sofrem do excesso da ingesta alimentar do que da sua privação (existem 850 milhões de desnutridos). Dados alarmantes demonstram que 32% das crianças e 64% dos adultos nos EUA apresentam sobrepeso ou obesidade (Runge, 2007). No Brasil, a prevalência de sobrepeso e/ou obesidade é de aproximadamente 30% (Mendonça e dos Anjos, 2004). Tanto os hábitos alimentares como o avanço tecnológico das sociedades urbanas vêm sofrendo influências da globalização e redes de interação social. Os hábitos inerentes às sociedades ocidentais já não respeitam limites territoriais. A

importância desses dados reside no fato de que há uma relação direta da prevalência da DHGNA com o crescimento da obesidade em diferentes países (Lazo e Clark, 2008). Obesidade é então o principal fator de risco para a DHGNA. Entre os obesos, a prevalência de esteatose variou de 64% a 97%; a de esteato-hepatite, de 25 a 40,4%; e a de cirrose chegou a 8% (Andersen e Gluud, 1984; Braillon *et al.*, 1985; Klain *et al.*, 1989; Silverman *et al.*, 1990; Luyckx *et al.*, 1998; Marceau *et al.*, 1999; Garcia-Monzon *et al.*, 2000; Dixon *et al.*, 2001; Guimarães, 2003).

Embora a DHGNA seja mais frequente em pacientes com sobrepeso e obesidade, uma fração de pacientes com DHGNA tem índice de massa corporal (IMC) normal. Muitos pacientes nesta situação apresentam adiposidade central. A distribuição central é particularmente prejudicial, tendo em vista que o acúmulo de gordura visceral está também associado com DM2, maiores graus de resistência a insulina, níveis elevados de triglicerídeos com níveis menores de HDL e maior risco cardiovascular (Cusi, 2009). A adiposidade central avaliada através da circunferência abdominal (CA) e da relação das circunferências abdominal e do quadril é um fator independente para a DHGNA (Kral *et al.*, 1993; Hsieh e Yoshinaga, 1995). A medida do tecido adiposo visceral por tomografia computadorizada abdominal ou impedância bioelétrica é mais fidedigna, porque não sofre influência do tecido adiposo subcutâneo. Num estudo realizado no Japão, ficou demonstrado que homens com cintura abdominal de 85 a 86 cm podem ter medidas de gordura abdominal tão diferentes como 67 a 137 cm² (New criteria for 'obesity disease' in Japan, 2002).

Das hiperlipidemias, particularmente a hipertrigliceridemia se associou à presença de DHGNA. Triglicerídeos séricos aumentados estiveram presentes em 20% a 81% dos pacientes com DHGNA (Luyckx *et al.*, 1998; Angulo *et al.*, 1999).

Outras anormalidades das lipoproteínas associadas à hipertrigliceridemia incluem aumento de partículas densas e menores de LDL e redução dos níveis de HDL.

Hipertensão arterial esteve presente em 15% a 68% dos pacientes com DHGNA em diferentes estudos (Kumar e Malet, 2000; Harrison *et al.*, 2008).

A resistência à insulina tem papel central na patogênese da DHGNA, a ponto de a DHGNA ter sido considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica. O termo síndrome metabólica é utilizado para descrever uma constelação de anormalidades metabólicas associadas com maior risco de eventos cardiovasculares. Se, por um lado, a identificação da síndrome metabólica poderia facilitar a identificação de pacientes com maior risco de DM ou de eventos cardiovasculares, não há comprovação de que a sua soma seja mais relevante do que cada um desses fatores e até de outros não contemplados nas variadas classificações (tabagismo, redução da apolipoproteína B).

Alguns estudos demonstraram que, entre pacientes com DHGNA, 47% a 71% preenchem critérios para a síndrome metabólica (Balkau, 1999; Marchesini *et al.*, 2004; Haukeland *et al.*, 2005) e mais de 90% apresentavam pelo menos um de seus componentes (Marchesini *et al.*, 2003). No estudo de Marchesini e cols. a presença da síndrome metabólica definida pelos critérios da ATPIII (Grundy *et al.*, 2005) aumenta em cerca de três vezes o risco para esteato-hepatite não alcoólica e fibrose acentuada. Por outro lado, em um estudo recente não houve maior prevalência de síndrome metabólica em pacientes com EHNA quando comparada àqueles com apenas esteatose a BH (Uslusoy *et al.*, 2009).

Vários estudos demonstraram a presença de DM em 10% a 55% dos pacientes com DHGNA (Ludwig *et al.*, 1980; Underwood Ground, 1984; Lee, 1989; Powell *et al.*, 1990; Bacon *et al.*, 1994; Teli *et al.*, 1995; Laurin *et al.*, 1996; Pinto *et*

al., 1996; Angulo *et al.*, 1999; Younossi *et al.*, 2004). Há evidências de que até 70% dos pacientes com DHGNA têm intolerância à glicose e/ou DM quando submetidos ao teste de tolerância à glicose com 75g de glicose anidra (Willner *et al.*, 2001). Alterações do metabolismo da glicose não são inesperadas na DHGNA, já que níveis elevados de ácidos graxos circulantes e lipotoxicidade tecidual promovem resistência à insulina e aceleram a falência das células β do pâncreas. Num período de cinco anos, 20% a 25% dos pacientes com DHGNA apresentaram DM (Friis-Liby *et al.*, 2004; Adams *et al.*, 2005b; Fan *et al.*, 2007). O risco de desenvolvimento de DM foi maior em pacientes com esteato-hepatite do que naqueles com apenas esteatose (Ekstedt *et al.*, 2006).

Depois da obesidade, DM foi o fator de risco que mais se correlacionou à presença de DHGNA, inclusive com formas mais graves de lesão histopatológica (Silverman *et al.*, 1990; Wanless e Lentz, 1990; el-Hassan *et al.*, 1992; Angulo *et al.*, 1999; Marchesini *et al.*, 1999; Matteoni *et al.*, 1999; Dixon *et al.*, 2001; Guimarães, 2003; Marchesini *et al.*, 2003; Mofrad *et al.*, 2003; Guha *et al.*, 2006).

A razão pela qual pacientes diabéticos apresentam formas mais graves de DHGNA não é conhecida. Supondo que a resistência a insulina tenha um papel principal na patogênese, menores graus de resistência a insulina estarão presentes nos estágios iniciais, enquanto maiores graus de resistência à insulina já com DM2 estabelecido estarão presentes nos estágios mais avançados da DHGNA (Kang *et al.*, 2006).

Além da resistência a insulina, entretanto, pacientes com DHGNA e DM compartilham outros mecanismos fisiopatológicos, como aumento de citocinas circulantes e do estresse oxidativo. Diferenças nesses mecanismos, bem como diferentes polimorfismos genéticos, poderiam justificar maior gravidade na

apresentação histopatológica da DHGNA em pacientes diabéticos.

Estudos em pacientes diabéticos também demonstraram prevalência elevada de DHGNA, variando entre 25% e 69,5% (Foster *et al.*, 1980b; Kemmer *et al.*, 2001; Kelley *et al.*, 2003; Gupte *et al.*, 2004; Younossi *et al.*, 2004; Angelico *et al.*, 2005; Targher *et al.*, 2007; Kotronen *et al.*, 2008).

Em um estudo realizado no México foram avaliados 60 pacientes com DM e 22 deles (37%) apresentavam elevação de enzimas hepáticas e/ou presença de esteatose em exame radiológico. Esses pacientes foram submetidos a BH, e a prevalência de esteato-hepatite foi de 64%. Não houve associação de enzimas hepáticas, perfil lipídico, valores de hemoglobina glicosilada ou IMC com a presença de esteato-hepatite (Kemmer *et al.*, 2001).

Younossi e cols. estudaram 132 pacientes que apresentavam critérios histológicos para DHGNA e avaliação clínico-laboratorial completa. Desses pacientes, 44 (33%) preenchiam critérios para diabetes. Os pacientes com diagnóstico de DM eram mais velhos, tinham maiores níveis de triglicerídeos, maior relação de AST/ALT e maior frequência de cirrose a BH. Nesse estudo retrospectivo, a presença de DM em pacientes com DHGNA também esteve associada com maior mortalidade global e relacionada a doenças hepáticas (Younossi *et al.*, 2004).

Num estudo realizado na Índia foram avaliados 100 pacientes diabéticos (tipo 2) e 49 apresentaram esteatose ao US. Desses 49, 32 foram submetidos a BH: 4 (12,5%) tinham esteatose e 28 (87,5%) tinham esteato-hepatite. Não houve associação de peso, níveis séricos de transaminases, colesterol total ou triglicerídeos com a presença de esteatose e/ou esteato-hepatite a BH (Gupte *et al.*, 2004). Posteriormente, o mesmo grupo publicou um novo estudo com o objetivo de determinar os fatores preditivos de fibrose nos pacientes diabéticos com esteato-

hepatite. Em 36 pacientes com esteato-hepatite, 11 (30,5%) tinham algum grau de fibrose. Os autores concluíram que, dentre as variáveis estudadas (sexo, idade, obesidade, hipercolesterolemia e enzimas hepáticas), apenas os níveis séricos de ALT, AST e a relação de AST/ALT poderiam predizer a presença de fibrose (Amarapurka *et al.*, 2006).

Num outro estudo realizado na Índia, os autores avaliaram uma coorte de 204 pacientes com DM2 entre 18 e 70 anos e a prevalência de esteatose pela US foi de 62,2%. A esteato-hepatite estava presente em 62,6% dos pacientes e a fibrose moderada em 37,3% daqueles pacientes submetidos a BH. Os parâmetros de controle do DM, o tempo de diagnóstico do DM e as medidas antropométricas não foram capazes de predizer a presença ou gravidade da DHGNA. Pacientes com esteato-hepatite tinham valores maiores de ALT, ainda que dentro da faixa da normalidade (Prashanth *et al.*, 2009).

Targher e cols. acompanharam 2.839 pacientes com DM2 durante o período de janeiro de 2005 a janeiro de 2006. O objetivo principal era estabelecer a prevalência de esteatose pela US abdominal em pacientes com DM e, em seguida, avaliar a associação de doença cardiovascular com a presença de DHGNA numa grande coorte de diabéticos. A prevalência de DHGNA foi de 69,5% e pacientes com DHGNA apresentaram maior prevalência de complicações cardiovasculares (doença cerebrovascular, doença coronariana, doença arterial periférica). Essa associação foi independente de outros fatores de risco cardiovascular, como controle glicêmico, medicações prescritas e a presença de síndrome metabólica (Targher *et al.*, 2007). Num estudo anterior, os autores não haviam encontrado uma associação independente da presença de DHGNA com complicações cardiovasculares (Targher *et al.*, 2006). A justificativa para a discrepância desses resultados foi um maior

número de casos incluído no estudo atual.

Num estudo recente tipo caso-controle os pacientes diabéticos apresentaram em média 80% a mais de gordura intra-hepática avaliada por ressonância magnética espectroscópica do que os controles pareados por sexo, idade e IMC. Essa diferença não foi explicada pelo tipo de medicações prescritas para DM. Os níveis séricos de aminotransferases subestimaram o conteúdo de gordura intra-hepática e, para um mesmo valor de ALT ou AST, pacientes com DM2 tinham 40% a 200% mais gordura intra-hepática do que os controles (Kotronen *et al.*, 2008).

Nos últimos anos, vem sendo reconhecida a importância da DHGNA na morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos. Tendo em vista a elevada prevalência da DHGNA aliada à possibilidade de evolução para cirrose, é fundamental que se identifique no grupo de pacientes diabéticos aqueles com maior risco de progressão da doença hepática. São também necessárias medidas de intervenção que reduzam o risco de progressão da doença hepática para suas formas graves.

Uma questão que ainda não está estabelecida é o papel da DHGNA no curso clínico do DM. Estudos demonstraram aumento da aterogênese e mortalidade cardiovascular em diabéticos com DHGNA (Adams *et al.*, 2005a; Ong *et al.*, 2008; Rafiq *et al.*, 2008), enquanto Targher e cols. encontraram associação de DHGNA com a presença de complicações microvasculares, como nefropatia e retinopatia (Targher *et al.*, 2008a).

A presença de esteatose hepática não apenas agrava a resistência a insulina, como também pode determinar as necessidades de insulina para equilibrar o controle glicêmico. Dessa forma, medidas que reduzam a esteatose hepática

poderiam ter influência tanto no prognóstico como na resposta terapêutica do DM2 (Ryysy *et al.*, 2000).

A Síndrome de Ovário Policístico é uma anormalidade endócrina frequente (6% a 10% das mulheres brancas). Ocorre no período pré-menopausa e está associada a menor sensibilidade à insulina no músculo e tecido adiposo (Dunaif, 1997). Alguns tecidos – como, por exemplo, o ovariano – manteriam a sensibilidade à insulina e sofreriam as consequências da hiperinsulinemia. Nas mulheres com Síndrome de Ovário Policístico ocorre aumento da produção de testosterona pelos ovários com as seguintes manifestações: hiperandrogenismo, anovulação crônica, oligomenorreia, hirsutismo e infertilidade. Desordens metabólicas como obesidade, dislipidemia e intolerância a glicose também estão presentes. Resistência a insulina na Síndrome de Ovário Policístico pode ser atribuída a alteração da fosforilação do receptor de insulina, que pode também regular a enzima P450c17 envolvida na biossíntese dos androgênios (Grant *et al.*, 2005).

Alguns estudos encontraram prevalência elevada de DHGNA em pacientes com Síndrome de Ovário Policístico e um outro estudo sugeriu que pacientes com esta condição apresentam maior risco de progressão da doença hepática (Setji *et al.*, 2006; Cerda *et al.*, 2007).

É muito conhecida a associação entre obesidade e Apneia Obstrutiva do Sono, sendo que, quanto maior a obesidade, maior risco de Apneia Obstrutiva do Sono e indiretamente também de RI (Lazo e Clark, 2008). Apneia do sono tem sido relatada com maior frequência em DM2 e em DHGNA e pode inclusive contribuir para a fadiga que os portadores apresentam (Newton *et al.*, 2008). A associação de Apneia Obstrutiva do Sono com DHGNA pode ser mediada pela obesidade e pela resistência a insulina. A gravidade da DHGNA correlaciona-se ao grau de resistência

a insulina nos pacientes com Apneia Obstrutiva do Sono, enfatizando este mecanismo na gênese das duas condições (Lazo e Clark, 2008). Evidências experimentais recentes, entretanto, sugerem que a hipóxia intermitente e transitória poderia ser um fator independente para a lesão hepática e também para a progressão de esteatose para esteato-hepatite e/ou fibrose (Savransky *et al.*, 2007; Zamora-Valdes e Mendez-Sanchez, 2007).

4.6 DHGNA: Diagnóstico

O diagnóstico da DHGNA é estabelecido em pacientes com alterações histopatológicas semelhantes à da hepatopatia alcoólica, cuja ingestão alcoólica seja incapaz de causar lesão hepática. Na série de casos de Ludwig *et cols.* os pacientes não ingeriam álcool ou bebiam menos do que um drinque por semana. Desde então os critérios variaram muito entre os estudos, mas considera-se o diagnóstico de DHGNA caso a ingestão diária de álcool seja menor que 20g nas mulheres e menor que 30g nos homens nos últimos cinco anos (Teli *et al.*, 1995; Matteoni *et al.*, 1999; Bellentani *et al.*, 2000).

No entanto, níveis seguros de ingestão alcoólica são difíceis de definir, e mesmo doses diárias menores que 20g podem contribuir para lesão celular, fibrogênese e carcinogênese na esteato-hepatite não alcoólica (Kirsch *et al.*, 2005). Essa noção é corroborada pelos achados de Ruhl e Everhart de que a ingestão de um ou mais drinks ao dia elevam a ALT em indivíduos obesos (Ruhl e Everhart, 2003).

Se por um lado não existe dúvida de que a obesidade aumenta o risco de cirrose em indivíduos que ingerem grandes quantidades de álcool, por outro há

dados recentes sugerindo que o consumo de menores quantidades pode ter um efeito protetor quanto à DHGNA. Esse efeito pode ser secundário à ação dessas pequenas quantidades do álcool no aumento da sensibilidade à insulina (Suzuki *et al.*, 2007).

As informações fornecidas pelo paciente e seus familiares são muito importantes para a exclusão de hepatopatia alcoólica, já que nenhuma manifestação clínica ou exame laboratorial é suficientemente específico para o uso de álcool. A história clínica nem sempre tem boa acurácia na avaliação da ingestão alcoólica, especialmente no que diz respeito à carga total de álcool durante toda a vida (obtida através da multiplicação da quantidade diária em gramas pelo tempo em anos da ingestão alcoólica). Hayashi e cols. aplicaram um questionário para verificar a história clínica obtida anteriormente. Embora seja um estudo pequeno, dos 23 pacientes que relataram ingestão inferior a 20g por dia, três tinham carga total durante a vida superior a 100 kg; e desses, dois afirmaram ingerir mais de 20g por dia (Hayashi *et al.*, 2004). Há um relato prévio de que a carga de álcool de 100kg durante a vida (equivalente a 30g por dia em 10 anos) pode causar hepatopatia alcoólica (Bellentani e Tiribelli, 2001). Aumento do volume corpuscular médio, níveis séricos de Gama-GT e relação AST/ALT mais elevados são sugestivos de etiologia alcoólica, mas de utilidade limitada. Marcadores específicos de ingestão crônica de álcool, como a taxa de transferrina deficiente em carboidratos e de AST mitocondrial em relação às dosagens totais de transferrina e de AST, parecem promissores, mas não estão disponíveis na prática clínica.

Além do álcool, é importante excluir também outras causas secundárias de esteatose hepática. Vários fármacos e exposição ambiental a hepatotoxinas podem causar esteatose, esteato-hepatite e até cirrose hepática por diferentes mecanismos.

Os casos de esteatose secundários ao uso de fármacos são pouco frequentes na prática clínica, representando menos de 2% do total de casos (Novak e Lewis, 2003). No entanto, a identificação de exposição a um fármaco ou hepatotoxina é muito importante, pois a retirada do agente causal pode reverter a lesão hepática.

Muitos pacientes procuram avaliação clínica por alterações incidentais nos exames laboratoriais ou estudos radiológicos demonstrando a presença de esteatose. A DHGNA é em geral assintomática, porém pode cursar com fadiga, dor ou leve desconforto no hipocôndrio direito e hepatomegalia ao exame físico. Raramente, sinais de insuficiência hepática e/ou hipertensão portal podem estar presentes em pacientes com doença hepática avançada. *Acanthosis nigricans* pode ser observada em pacientes mais jovens. A maioria dos pacientes apresenta obesidade central, e o acúmulo de tecido adiposo na região cervical posterior teve associação com maior gravidade à histopatologia em pacientes com DHGNA (Cheung *et al.*, 2007). A presença de condições clínicas ligadas à síndrome metabólica contribui para o diagnóstico, o qual deve ser perseguido, independentemente dos valores das enzimas hepáticas.

A elevação de aminotransferases varia entre duas até cinco vezes o limite da normalidade, e em geral ocorre mais frequentemente na esteato-hepatite do que na esteatose simples (Harrison e Neuschwander-Tetri, 2004; Adams *et al.*, 2005b). Por outro lado, dosagens repetidamente normais de aminotransferases não excluem o diagnóstico de DHGNA e nem mesmo de estágios mais avançados de fibrose. A alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima abundante no citossol dos hepatócitos e é comumente usada para refletir o grau de inflamação hepática em pacientes com hepatopatia crônica. Em um estudo retrospectivo, Mofrad e cols. compararam pacientes com DHGNA com valores de ALT normais e elevados e

concluíram que não houve diferença significativa quanto à presença de fibrose avançada nos dois grupos, mesmo no subgrupo com ALT <30 UI (Mofrad *et al.*, 2003). Com o objetivo de avaliar a acurácia da ALT para o diagnóstico de esteato-hepatite, Kunde e cols. estudaram 233 mulheres obesas no pré-operatório de cirurgia bariátrica. Enquanto para o valor superior a 30U/L houve boa especificidade com sensibilidade baixa, para o valor superior a 19U/L a sensibilidade aumentou às custas de uma queda significativa da especificidade (Kunde *et al.*, 2005). Mesmo entre as pacientes com ALT <19U/L, valor recentemente proposto para mulheres, 23% apresentavam esteato-hepatite e 5% fibrose avançada. Em um outro estudo com obesos mórbidos submetidos a biópsia hepática durante a cirurgia bariátrica, a sensibilidade da ALT > 40UI foi de 45% para a presença de EH, enquanto a especificidade foi de 64% (Garcia-Monzon *et al.*, 2000).

Wong e cols. não encontraram um ponto de corte da ALT em que se possa determinar com segurança a presença de esteato-hepatite e fibrose. Nesse estudo, pacientes com níveis menores que 0,5 x o valor superior da normalidade apresentavam esteato-hepatite (42%) e fibrose avançada (16%). Uma outra conclusão do artigo é que a ALT não é um bom marcador para o acompanhamento evolutivo da DHGNA, pois num subgrupo com seguimento de três anos a média da ALT não se associou com mudanças no escore de atividade inflamatória ou estágio de fibrose (Wong *et al.*, 2009). Uma possível justificativa para a ausência desta associação seria a de que pacientes com estágio avançado de fibrose e cirrose podem inclusive apresentar redução de ALT à medida que a doença torna-se inativa. Suzuki e cols. também estudaram a associação da variação das aminotransferases com as alterações encontradas à biópsia ao longo do tempo. Nesse estudo, a taxa de alterações de ALT e AST relacionou-se com mudanças da atividade inflamatória,

mas não com o grau de esteatose ou fibrose (Suzuki *et al.*, 2006). Outra desvantagem do uso da ALT para o acompanhamento evolutivo da DHGNA seria sua grande variabilidade. No estudo de Wong e cols. o coeficiente de variabilidade intrapaciente foi ainda maior do que no estudo realizado na população americana (NHANES III) (Lazo *et al.*, 2008).

Habitualmente os pacientes apresentam-se com alterações de outras enzimas hepáticas. A AST é menor que a ALT em 65% a 90% dos pacientes com DHGNA (Kim e Younossi, 2008). A AST aumenta com a redução de seu clearance à medida que progride a fibrose sinusoidal, e a relação de AST/ALT maior que 1 está associada à fibrose avançada (Angulo *et al.*, 1999; Ratziu *et al.*, 2000; Tsang *et al.*, 2006). Essa associação também foi demonstrada em outras hepatopatias, como a hepatite crônica C (Seth *et al.*, 1998). Níveis de fosfatase alcalina e gamaGT podem estar elevados em até duas a três vezes em mais da metade dos casos de DHGNA (Kim e Younossi, 2008).

A faixa de referência dos laboratórios para as aminotransferases pode não refletir os valores normais para uma população de adultos saudáveis, porque é derivada de estudos populacionais, em que cerca de 1/3 da população apresenta DHGNA. Em um estudo retrospectivo em Milão, foram estudados doadores de sangue, com marcadores negativos para vírus B, C e HIV, sem uso de medicações e que apresentavam IMC, valores de glicose, colesterol total e triglicérides normais. Os novos pontos de corte para ALT considerando o valor menor que o percentil 95 foram de 30U/L para os homens e 19U/L para as mulheres (Prati *et al.*, 2002). Persistem questões a serem esclarecidas, como qual é a melhor enzima ou combinação de enzimas que sugere a presença ou estágio evolutivo de DHGNA, o nível a partir do qual se obtém a maior sensibilidade com melhor especificidade e se

medidas seriadas das enzimas são mais fidedignas.

Em relação à cinética do ferro, podemos encontrar ferritina e saturação de transferrina elevada em até 50% e 10% dos casos, respectivamente. A hiperferritinemia não traduz maior sobrecarga de ferro, mas sim a injúria e inflamação hepática (Kim e Younossi, 2008). Alterações das provas de função hepática com hipoalbuminemia, hiperbilirrubinemia e aumento do tempo de atividade de protrombina podem ocorrer na presença de cirrose. Anemia, leucopenia e trombocitopenia podem surgir como manifestações do hiperesplenismo.

Os métodos de imagem têm sido utilizados para pesquisa de DHGNA, sendo que o mais estudado foi a ultrassonografia abdominal. A US também é o método mais utilizado para avaliar a presença de esteatose, por ser mais disponível e de menor custo. A presença de esteatose é inferida pelo aumento da ecogenicidade do fígado em relação à do baço e dos rins, redução da visualização do lume de veias hepáticas e diafragma. Quanto à intensidade do aumento da ecogenicidade, a esteatose será classificada em: leve (aumento da ecogenicidade e visualização normal de vasos e diafragma); moderada (aumento maior da ecogenicidade e leve redução da visualização de vasos e diafragma); grave (aumento marcante da ecogenicidade e ausência da visualização de vasos e diafragma) (Yajima *et al.*, 1983; Saverymuttu *et al.*, 1986; Saadeh *et al.*, 2002; Shen *et al.*, 2003). Tanto a esteatose como a fibrose podem cursar com hiperecogenicidade a US abdominal, entretanto um padrão mais grosseiro é encontrado em vigência de fibrose. Tobar e cols. avaliaram 118 pacientes com DHGNA submetidos a US com intervalo de até seis meses da biópsia hepática. Em 24 dos 118 pacientes com esteatose leve a acentuada à biópsia hepática, a US não pôde identificar a presença de esteatose. Vinte e um desses 24 apresentavam também fibrose acentuada à biópsia hepática,

e a US identificou apenas a presença de fibrose (Tobari *et al.*, 2009).

Em estudos que correlacionaram os achados ultrassonográficos com a histopatologia a sensibilidade foi de 60% a 100% e a especificidade variou de 82% a 94% (Foster *et al.*, 1980a; Yajima *et al.*, 1983; Sanford *et al.*, 1985; Needleman *et al.*, 1986; Saverymuttu *et al.*, 1986; Celle *et al.*, 1988; Joseph *et al.*, 1991;. Graif *et al.*, 2000; Mathiesen *et al.*, 2002; Saadeh *et al.*, 2002).

Em pacientes com obesidade mórbida a sensibilidade diminui para 49%, e a especificidade para 75%, por dificuldades técnicas em utilizar esse método neste grupo especial de pacientes (Mottin *et al.*, 2004).

Assim como as demais modalidades radiológicas, a US abdominal também teve menor sensibilidade se o percentual de esteatose era inferior a 30% na biópsia hepática e não pôde separar esteatose de esteato-hepatite ou de fibrose. Outra importante limitação da US abdominal é que, por ser um método operador-dependente, apresenta significativa variabilidade intra e interobservador. A concordância quanto à presença e a quantificação de esteatose por um mesmo examinador foi substancial (kappa de 0,77 e 0,63, respectivamente). Quando a quantificação da esteatose foi avaliada entre diferentes examinadores, a variabilidade foi maior (kappa de 0,4). Não foi possível realizar a análise da presença de esteatose entre examinadores diferentes (Saadeh *et al.*, 2002). Strauss e cols. também encontraram variabilidade substancial intra e interobservador na avaliação ultrassonográfica da presença e graduação da esteatose. Diferentes observadores concordaram na presença e graduação da esteatose em 72% (kappa de 0,43) e 59% (kappa de 0,51). A concordância das avaliações realizadas por um mesmo examinador foi de 76% (kappa de 0,54) e 68% (kappa de 0,63). Nesse estudo não foi realizada avaliação histológica e a concordância obtida poderia ser maior caso

fossem estudados apenas pacientes com grau de esteatose superior a 33% na biópsia hepática. Outras limitações citadas pelos autores foram a análise retrospectiva de imagens obtidas previamente por outros examinadores e o fato de que os radiologistas trabalhavam juntos nos últimos oito anos (Strauss *et al.*, 2007).

Como a avaliação da presença e quantificação da esteatose é subjetiva, vêm sendo estudados sistemas sonográficos com auxílio de técnicas computadorizadas para graduar com mais precisão a esteatose. Por enquanto, esses métodos não estão disponíveis para a prática clínica.

A associação do eco-Doppler a US abdominal pode melhorar o diagnóstico da esteatose, já que o acúmulo de gordura nos hepatócitos podem determinar padrão anormal de fluxo nas veias supra-hepáticas (Oguzkurt *et al.*, 2005). Também contribui para o diagnóstico de estágios avançados da DHGNA com sinais de hepatopatia crônica e/ou hipertensão porta.

Na tomografia computadorizada abdominal, a esteatose se reflete como uma diminuição da atenuação do parênquima hepático, o que pode ser determinado visualmente pela comparação com o baço. O critério objetivo para determinação da esteatose é uma medida da atenuação hepática pelo menos 10UH (unidades de Hounsfield) menor do que a do baço. Quanto menor a atenuação do parênquima, maior a intensidade da esteatose. No estudo de Saadeh, a sensibilidade para detectar esteatose superior a 33% foi de 93% e o valor preditivo positivo de 76% (Saadeh *et al.*, 2002).

O depósito de ferro aumenta a atenuação do parênquima hepático e prejudica a avaliação da esteatose pela tomografia computadorizada abdominal quando existe sobrecarga férrica (Mendler *et al.*, 1998). A infusão de contraste com estudo dinâmico pode auxiliar no diagnóstico diferencial de esteatose focal e área de

preservação do parênquima com outras lesões focais.

No estudo de Saadeh e cols. a vantagem atribuída à ressonância nuclear magnética foi a menor variabilidade interobservador na quantificação da esteatose (Saadeh *et al.*, 2002). A realização de sequências de gradient-echo em que sejam obtidas imagens em que gordura e água estejam “em fase” e “fora de fase” permite a identificação e quantificação da esteatose pela ressonância nuclear magnética. O fígado com esteatose aparece hiperintenso em relação ao baço nas imagens ponderadas em T1 “em fase”. Nas imagens em T1 “fora de fase” o fígado esteatótico encontra-se hipointenso em relação ao baço. Quanto maior a perda de sinal obtida nessas duas fases, maior a quantidade de esteatose. A avaliação por espectroscopia pode quantificar melhor líquidos e lipídios teciduais, porém ainda não há estudos clínicos demonstrando a utilidade deste método no seguimento dos pacientes com DHGNA.

Novas técnicas radiológicas podem ser úteis no diagnóstico da esteato-hepatite e fibrose em pacientes com DHGNA. Tanto a US como a ressonância nuclear magnética combinadas à elastografia vêm sendo estudadas para a detecção de fibrose. Em estudos recentes em pacientes com DHGNA, maior rigidez hepática medida pela elastografia combinada com US esteve associada com maior grau de fibrose hepática (Yoneda *et al.*, 2007a; Ziol *et al.*, 2009).

No estudo de Yoneda e cols. o grau de rigidez hepática não se correlacionou ao grau de esteatose na biópsia hepática. Houve, entretanto, interferência na avaliação da rigidez hepática pela presença de gordura no tecido subcutâneo em pacientes com IMC elevado, como descrito anteriormente por outros autores (Yoneda *et al.*, 2007a). Um recente estudo demonstrou sensibilidade de 98% e especificidade de 99% para a detecção de fibrose com ressonância nuclear

magnética combinada a elastografia. O grau de esteatose não prejudicou a análise dos graus de fibrose (Yin *et al.*, 2009).

4.7 DHGNA: Histologia

A biópsia hepática é o único método capaz de definir a presença de esteato-hepatite e fibrose e, portanto, de estimar o prognóstico da DHGNA. Ela também afasta outras etiologias que podem ser as responsáveis ou contribuir com a DHGNA para as alterações das enzimas hepáticas. Pacientes com suspeita diagnóstica de DHGNA, porém que apresentem saturação de transferrina e ferritina elevados ou altos títulos de autoanticorpos devem ser submetidos à biópsia hepática. A definição quanto à presença de hemocromatose hereditária ou hepatite autoimune é fundamental para a abordagem terapêutica. A concomitância de DHGNA e outras doenças hepáticas é uma área de crescente interesse tanto para clínicos como para patologistas. A associação mais comum é a da DHGNA com hepatite crônica C com impacto negativo no prognóstico e na resposta ao tratamento viral (Conjeevaram *et al.*, 2007). A avaliação histológica também é de grande valor para determinar a eficácia terapêutica de fármacos em ensaios clínicos.

Desde a descrição dos primeiros casos de esteato-hepatite não alcoólica em 1980 por Ludwig e cols., vem se tentando uniformizar os critérios mínimos para o diagnóstico dessa condição. Foram propostas classificações (anexo IV) que vêm sendo utilizadas em protocolos de estudo e na prática clínica. Pela classificação de Brunt, o diagnóstico de esteato-hepatite será estabelecido quando, além de esteatose, estiverem presentes duas das três alterações em zona 3: focos de necroinflamação com infiltrados de polimorfonucleares e/ou mononucleares;

balonização de hepatócitos com ou sem corpúsculos de Mallory e presença de fibrose pericelular e perisinusoidal (Brunt *et al.*, 1999). Pelos critérios de Matteoni, considera-se esteato-hepatite a combinação de esteatose e pelo menos uma das condições: balonização de hepatócitos; fibrose ou corpúsculos de Mallory (Matteoni *et al.*, 1999).

Mais recentemente, a rede de pesquisa clínica em esteato-hepatite não alcoólica patrocinada pelo National Institute of Health (NIH) propôs um sistema de graduação semiquantitativa de lesões histológicas relacionadas a DHGNA. Esse sistema foi baseado na proposta de graduação de Brunt, com pequenas diferenças na categorização da fibrose, esteatose mínima e subcategorias da balonização. O objetivo do sistema de pontuação de Kleiner e cols. era criar um escore de atividade de DHGNA que pudesse ser utilizado em protocolos terapêuticos e como medida de progressão em estudos de história natural. No entanto, seu valor na prática clínica ainda não foi definido (Kleiner *et al.*, 2005).

A quantidade necessária de esteatose para o diagnóstico de esteato-hepatite não está estabelecida, porém a maior parte dos pacientes apresenta esteatose geralmente macrovesicular em quantidade moderada ou intensa, predominando em zona 3. O acúmulo de esteatose se inicia na zona 3, e quando se acentua, ocupa todo o ácino. A predominância da esteatose em zona 1 é mais encontrada em crianças. A esteatose microvesicular pode ou não estar presente em DHGNA, e nunca é a forma predominante. Inflamação em DHGNA é tanto lobular como portal. Classicamente, o infiltrado inflamatório é de localização lobular e com predomínio de leucócitos polimorfonucleares. Todavia, podem ser encontrados infiltrados em localização portal ou com características mistas (leucócitos polimorfonucleares e mononucleares, além de eosinófilos). Inflamação portal crônica

é mais acentuada em DHGNA em crianças e pode ser considerada um marcador de doença mais grave, já que se associa com esteato-hepatite e fibrose mais avançada. Corpúsculos de Mallory são massas eosinofílicas compostas de polipeptídeos de citoqueratina presentes no citoplasma de hepatócitos. Não são essenciais para o diagnóstico e muitas vezes aparecem em hepatócitos que sofreram balonização (grandes e com citoplasma rarefeito). Além da esteatose e da inflamação lobular, a balonização de hepatócitos auxilia no diagnóstico diferencial entre esteatose e esteato-hepatite. A fibrose se inicia na região perivenular em adultos e na região portal em crianças. Num estágio superior a fibrose ocorre na região perisinusoidal e portal e progride com formação de pontes porta-centro e porta-porta, até a cirrose. Em pacientes com esteato-hepatite que desenvolvem fibrose avançada, a esteatose e atividade necroinflamatória, que caracterizam a doença, podem desaparecer. Por esse motivo, muitos autores vêm considerando que um grande percentual das cirroses criptogênicas são, na verdade, secundárias à esteato-hepatite não alcoólica.

Os patologistas precisam da correlação com dados da história clínica para a determinação do diagnóstico, pois as mesmas alterações histopatológicas podem ser encontradas na esteato-hepatite por álcool ou fármacos. São observados quadros mais intensos de esteato-hepatite na lesão secundária ao álcool, com maior número de neutrófilos e corpúsculos de Mallory. À microscopia eletrônica, podem ser identificadas mitocôndrias gigantes com inclusões paracristalinas. Mas esses achados não são patognomônicos de esteato-hepatite alcoólica. Em contraste, graus mais acentuados de esteatose, além de lipogranulomas e núcleos glicogenados são mais frequentes na DHGNA (Brunt e Tiniakos, 2009). A interpretação da biópsia hepática não acrescenta muito para distinguir a DHGNA das lesões secundárias a exposição a fármacos. A esteatose pode predominar na zona 1 nas lesões causadas

pela amiodarona e corticoides, porém localiza-se preferencialmente na zona 3 na grande maioria das lesões por fármacos. A esteatose microvesicular é menos frequente e correlaciona-se com lesão hepática mais grave, desencadeada por disfunção mitocondrial. Tetraciclina, ácido valproico, didanosina (DDI), zidovudina (AZT) são os principais fármacos associados a esse tipo de esteatose. Esteatose macrovesicular e esteato-hepatite podem estar presentes em lesão por amiodarona, tamoxifen e corticoides. O diagnóstico de DHGNA em pacientes com hepatite C crônica é difícil, porque tanto a esteatose como a inflamação lobular estão presentes em ambas. A presença de fibrose perisinusoidal, esteatose e atividade necroinflamatória na zona 3, balonização de hepatócitos e corpúsculos de Mallory favorecem a presença de esteato-hepatite não alcoólica (Brunt *et al.*, 2003). Num estudo recente, a presença de esteato-hepatite foi observada em 9% dos pacientes com hepatite C, principalmente naqueles infectados pelo genótipo 3 (Bedossa *et al.*, 2007). Recentemente vem sendo descrita em biópsias hepáticas de pacientes diabéticos uma nova condição denominada de hepatoesclerose. Num estudo de autópsias por um período de 10 anos, 19 (12%) de 159 pacientes com DM incluídos apresentavam densa proliferação de colágeno perisinusoidal característica da hepatoesclerose. Houve associação dessa lesão com a presença de nefropatia diabética, e alguns autores têm sugerido que ela seja consequência da microangiopatia diabética no fígado. Também permanece indefinida a importância clínica dessa condição (Chen e Brunt, 2009). Com certeza, a histologia é de grande valor no diagnóstico da esteato-hepatite, no estadiamento da fibrose e no diagnóstico diferencial de outras patologias hepáticas. Entretanto, não existe consenso em relação à realização da biópsia nos pacientes com DHGNA. Os principais argumentos contra o procedimento são os custos, a morbidade e a falta de

um tratamento comprovadamente eficaz. A dor no local da biópsia é a complicação mais comum, acometendo cerca de 84% dos pacientes submetidos ao procedimento. Sangramento maior com alteração dos sinais vitais, necessidade de hospitalização, avaliação radiológica e intervenção terapêutica ocorre em até 1 de cada 2.500 procedimentos realizados. O sangramento parece se associar à experiência do examinador, ao calibre da agulha e ao número de tentativas de obter o fragmento. Outras complicações - como pneumotórax, hemotórax e perfuração de vísceras ocas - podem ocorrer em menor frequência e devem ser imediatamente reconhecidas e tratadas. A morte após biópsia percutânea é muito rara, em torno de 1 a cada 10.000 procedimentos, sendo mais relacionada a sangramento maior (Rockey *et al.*, 2009). Para justificar o risco do procedimento invasivo, é importante que o tamanho do fragmento seja suficiente, permitindo a visualização de um número representativo de espaços-porta. A amostra obtida pela biópsia hepática representa apenas 1/50.000 do total da massa hepática, e, além disso, o acometimento do parênquima é heterogêneo na DHGNA. Então, quanto maior o tamanho da amostra, maior a reprodutibilidade da análise histológica. Fragmentos superiores a 25mm oferecem melhor concordância entre patologistas. Num estudo multicêntrico francês de 1.292 biópsias de pacientes com hepatite C, em apenas 27% o fragmento foi superior a 20mm (mediana de 25mm) (Poynard *et al.*, 2007). Num estudo com 733 pacientes com diagnóstico histológico de DHGNA incluídos em diferentes centros, a média do fragmento foi de 18,7mm +/- 8,5mm e houve correlação das dimensões do fragmento com o número de espaços-porta visualizados ($r = 0,72$ $p < 0,001$) (Angulo *et al.*, 2007). O tamanho do fragmento é proporcional também ao calibre da agulha utilizada para o procedimento. Agulhas com calibre igual ou superior a 16G são mais eficazes na obtenção de um fragmento

adequado. Biópsias em cunha podem superestimar o estágio de fibrose quando apenas o parênquima subjacente à cápsula é disponível para avaliação. O meio utilizado para obtenção do material também pode influenciar na interpretação. Biópsias intraoperatórias após longo período de plano anestésico podem levar a um acúmulo de polimorfonucleares em torno de vênulas hepática terminais (hepatite cirúrgica). O auxílio da US abdominal para determinar o local da biópsia percutânea poderá melhorar a qualidade dos fragmentos obtidos e reduzir incidência de complicações. O erro de amostragem também pode ser reduzido com a obtenção de mais do que um fragmento para a análise histológica. Cerca de 30% dos pacientes apresentaram diferenças em pelo menos um estágio de fibrose quando foram submetidos a biópsias dos lobos direito e esquerdo (Regev *et al.*, 2002). Todavia essa estratégia não é muito utilizada na prática clínica. Com o objetivo de analisar a variabilidade entre dois fragmentos de biópsias, Ratziu e cols. estudaram 51 pacientes com DHGNA e utilizaram a classificação de Brunt e cols. Houve concordância substancial apenas para esteatose, moderada para balonização e fibrose perisinusoidal, considerável para a presença de corpúsculos de Mallory e leve para inflamação lobular. Os autores consideram que parte da variabilidade encontrada poderia resultar da variabilidade intraobservador. Entretanto, no presente estudo a concordância entre duas leituras de uma mesma amostra foi sempre superior à da concordância entre as duas amostras para todos os parâmetros histológicos. A melhor concordância na interpretação dos resultados por um mesmo examinador foi para o grau de esteatose (kappa de 0,74), seguida do estágio de fibrose (kappa de 0,69) e da balonização (kappa de 0,62) (Ratziu *et al.*, 2005). Estudos de reprodutibilidade demonstraram boa concordância para a extensão da esteatose, presença de fibrose perisinusoidal e estágio de fibrose. Houve maior

discordância em relação à inflamação lobular, à semelhança dos resultados obtidos em estudos realizados em pacientes com hepatite crônica (Younossi *et al.*, 1998; Fukusato *et al.*, 2005; Kleiner *et al.*, 2005). Como já podíamos supor, a variabilidade interexaminador foi maior do que a variabilidade intraexaminador. No estudo de Kleiner e cols. houve razoável concordância entre diferentes patologistas para os principais parâmetros histológicos, como grau de esteatose, fibrose, presença de balonização e corpúsculos de Mallory, todos com valores de kappa maior do que 0,5.

4.8 DHGNA: História natural, evolução, mortalidade e complicações ligadas à doença hepática crônica

A dificuldade em definir a história natural da esteato-hepatite se deve a poucos estudos com seguimento a longo prazo e reavaliação histopatológica. Além disso, grande parte dos pacientes foram incluídos em centros especializados e não sabemos se a morbidade e a mortalidade de um grupo selecionado refletem as da maioria dos pacientes com DHGNA. Outro problema é a falta de uniformidade nos critérios utilizados para a definição da esteato-hepatite. Alguns estudos usaram a presença de esteatose e inflamação lobular, enquanto outros utilizaram classificações mais atuais com balonização de hepatócitos e/ou fibrose (Ludwig *et al.*, 1980; Lee, 1989; Brunt *et al.*, 1999; Matteoni *et al.*, 1999).

Em um estudo retrospectivo, 136 pacientes foram subdivididos de acordo com a histologia em quatro tipos e os dados evolutivos estiveram disponíveis em 98 deles por um período de 10 anos. Houve progressão para cirrose em 21% e 28%, respectivamente, nos tipos 3 e 4. A mortalidade nesses grupos foi de 11% no período de 10 anos, sendo a doença hepática a segunda causa de mortes neste

grupo (a primeira foi neoplasia). Os tipos 1 e 2 tiveram melhor prognóstico, apenas 3% dos pacientes com esteatose isolada apresentaram progressão de fibrose e desenvolvimento de cirrose (Matteoni *et al.*, 1999).

Adams e cols. revisaram os dados de 103 pacientes com DHGNA submetidos a mais de uma biópsia hepática num intervalo médio de 3,2 anos. Entre aqueles com reavaliação histopatológica num período superior a quatro anos, 67% apresentaram aumento da progressão da fibrose. Pela análise multivariada, a presença de diabetes e estágios iniciais de fibrose à primeira biópsia associaram-se a maior taxa de progressão da fibrose. Dos pacientes que tinham apenas esteatose, nenhum deles desenvolveu fibrose. Outro dado interessante deste estudo é que houve redução significativa dos níveis de transaminases e da esteatose, inflamação, balonização de hepatócitos e corpúsculos de Mallory entre a primeira e última biópsia hepática. Três pacientes com cirrose chegaram a perder todas as evidências de esteatose na biópsia hepática. Esse resultado reforça a ideia de que muitos dos casos de cirrose criptogênica possam ser, na verdade, secundários à esteato-hepatite (Adams *et al.*, 2005b).

Os mesmos autores publicaram em 2005 um estudo com o objetivo de determinar a mortalidade e morbidade de pacientes com DHGNA em Olmsted County, Minnesota. A mortalidade nesse grupo de pacientes foi superior à da população geral de Minnesota num período médio de acompanhamento de 7,6 anos. A doença hepática foi a terceira causa de morte nos pacientes com DHGNA e a décima terceira na população geral (Adams *et al.*, 2005a).

Numa coorte de 129 pacientes com DHGNA com avaliação histológica incluídos no período de 1988 a 1993, 88 pacientes sobreviveram e concordaram em participar de um estudo de seguimento. O período médio de acompanhamento foi de

13,7 anos e 5,4% desenvolveram doença hepática avançada. Uma comparação com a população de referência demonstrou que pacientes com esteato-hepatite não alcoólica tinham maior risco de morte por doenças cardiovasculares e complicações de doença hepática. Nenhum paciente sem fibrose ou com estágio 1 à biópsia hepática inicial apresentou complicações relacionadas a doença hepática crônica. A progressão do estágio de fibrose ocorreu em 41% dos pacientes e os fatores associados com a progressão foram ganho ponderal superior a 5kg, maiores graus de resistência a insulina e de percentual de esteatose (Ekstedt *et al.*, 2006). Argo e cols. realizaram uma análise sistemática de estudos longitudinais com avaliação da progressão da fibrose em pacientes com DHGNA. Incluíram 10 estudos com 221 pacientes, dos quais 83 (37,6%) apresentaram progressão de pelo menos um estágio de fibrose. O período de acompanhamento médio foi de 5,9 anos e a taxa de progressão foi de 0,41 estágio por ano. Os fatores associados à progressão da fibrose foram idade e grau de inflamação na biópsia inicial. A presença de qualquer grau de inflamação, ajustando-se para variáveis demográficas, comorbidades e outros parâmetros histológicos, aumentou em 2,5 vezes o risco de desenvolver fibrose avançada. Além das limitações já citadas anteriormente para os estudos de história natural, outras foram citadas pelos autores: disparidades nos parâmetros clínicos e laboratoriais incluídos, dados incompletos de algumas variáveis, representação desproporcional de alguns estudos, erros de amostragem e variabilidade na interpretação da biópsia hepática (Argo *et al.*, 2009).

Há alguns relatos de menor mortalidade na cirrose secundária a DHGNA quando comparada àquela causada pelo vírus da hepatite C (Hui *et al.*, 2003). Cirrose relacionada a DHGNA também pode evoluir com falência hepática, aparecimento de carcinoma hepatocelular e recorrência após transplante hepático.

Numa série de 105 casos com carcinoma hepatocelular, a DHGNA foi responsável por 13% dos casos (Marrero *et al.*, 2002). A DHGNA é fator de risco para carcinoma hepatocelular, e até 33% dos casos ocorreram em pacientes sem cirrose numa série de casos no Japão (Hashizume *et al.*, 2007). A carcinogênese hepática induzida pela esteato-hepatite resulta do estresse oxidativo com liberação de citocinas e mecanismos de aumento da proliferação celular em contrapartida à inibição da apoptose. Numa coorte de 137 pacientes com esteato-hepatite acompanhados de 1990 a 2007, a incidência de carcinoma hepatocelular foi de 7,6% em cinco anos e foi a principal causa de morte nesta coorte (Hashimoto *et al.*, 2009). Esses dados apontam para a necessidade de detecção precoce de carcinoma hepatocelular nessa população.

Com o aumento da prevalência da DHGNA, estima-se que ela será a principal indicação de transplante hepático nos próximos 10 a 20 anos (Koehler *et al.*, 2009). A presença de esteatose no fígado doador associa-se com disfunção primária do enxerto, e o aumento da prevalência de DHGNA também aumentará o número de doadores inadequados (Verran *et al.*, 2003). A sobrevivência após três anos de transplante é semelhante às outras indicações, mas a DHGNA pode recorrer ou surgir de novo no período pós-transplante. É importante tratar as condições clínicas associadas à síndrome metabólica no pós-transplante e há evidências da redução da frequência de complicações metabólicas evitando-se o uso de corticoides e inibidores de calcineurina (Koehler *et al.*, 2009).

4.9 DHGNA: Risco de complicações cardiovasculares

Nos últimos anos os estudos epidemiológicos demonstraram associação da DHGNA com a presença dos fatores de risco clássicos para doença cardiovascular, como obesidade, diabetes mellitus e os componentes da síndrome metabólica. Vários estudos longitudinais identificaram que a doença cardiovascular é uma causa de óbito mais comum nos pacientes com DHGNA do que a doença hepática crônica. (Adams *et al.*, 2005a; Ong *et al.*, 2008; Rafiq *et al.*, 2008) No estudo de Adams e cols. em pacientes com DHGNA residentes em Olmsted County, a doença coronariana foi responsável por 25% das mortes, e a doença hepática por 13% (Adams *et al.*, 2005a). Avaliando o cadastro de óbito e pacientes incluídos no NHANES, Ong e cols. demonstraram que a doença cardiovascular foi a causa mais comum de morte nos 817 pacientes com suspeita de DHGNA (Ong *et al.*, 2008). A doença coronariana foi a principal causa de óbito em uma coorte acompanhada por Rafiq e cols. por um período médio de 11 anos (Rafiq *et al.*, 2008). Alguns autores vêm sugerindo que a DHGNA não é apenas um marcador de risco para doença cardiovascular, mas que ela poderia estar ativamente envolvida na sua patogênese. Os mecanismos seriam a liberação de substâncias pró-aterogênicas (proteína C, fibrinogênio, inibidor do ativador de plasminogênio 1 e citocinas inflamatórias), contribuição na resistência a insulina e na dislipidemia (Targher *et al.*, 2008b). Embora a possibilidade de desenvolvimento de doença hepática crônica seja uma realidade, o controle dos fatores de risco cardiovascular deve ser uma prioridade nesse grupo de pacientes.

4.10 DHGNA: Diagnóstico não invasivo de esteato-hepatite e fibrose avançada

Uma questão que se impõe pelos resultados dos estudos de história natural é a importância clínica de diagnosticar esteatose sem inflamação, esteato-hepatite e fibrose avançada. A presença de esteatose isolada confere baixo risco de progressão para cirrose e maior preocupação reside no risco de condições cardiovasculares associadas. A identificação de fibrose avançada implica o rastreamento de complicações da doença hepática crônica, incluindo carcinoma hepatocelular. A detecção do grau de inflamação tem importância prognóstica. Pacientes com esteato-hepatite são os maiores candidatos a estudos de intervenção terapêutica para prevenir progressão da fibrose.

A biópsia hepática é o único método capaz de identificar lesões histológicas com maior potencial de evolução para cirrose. Porém, um método diagnóstico invasivo não é o mais apropriado para uma condição tão prevalente que pode acometer até um terço da população. Assim, há crescente interesse na literatura em identificar métodos não invasivos que possam diagnosticar esteato-hepatite e determinar a presença e a extensão da fibrose. Marcadores séricos envolvidos nos mecanismos fisiopatológicos da progressão da DHGNA podem ser úteis tanto no diagnóstico como no acompanhamento clínico e da resposta a intervenções terapêuticas. O marcador sérico ideal deve ser amplamente disponível, de baixo custo e reprodutível. No entanto, é uma ilusão imaginar que um único marcador possa ter sensibilidade e especificidade suficientes para o diagnóstico das formas avançadas da DHGNA. O recrutamento de células inflamatórias e a liberação de citocinas pró-inflamatórias têm participação na patogênese e progressão da DHGNA.

Pacientes com esteato-hepatite apresentam níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral e interleucina 6 e níveis reduzidos de adiponectina, com propriedades anti-inflamatórias (Pagadala *et al.*, 2009). Também pode haver associação da gravidade da fibrose com menores valores séricos de adiponectina e maiores valores de interleucina 6 (Pagadala *et al.*, 2009). Os resultados são inconsistentes para a proteína C ultrasensível, mas um estudo encontrou níveis mais elevados deste marcador tanto em pacientes com esteato-hepatite como naqueles com fibrose avançada (Hui *et al.*, 2004; Yoneda *et al.*, 2007b). Fragmentos da citoqueratina 18 resultantes da ativação da apoptose são mais elevados em pacientes com esteato-hepatite (Wieckowska *et al.*, 2006; Younossi *et al.*, 2008; Malik *et al.*, 2009). No estudo de Wieckowska e cols. em 44 pacientes com suspeita de DHGNA, níveis de derivados da citoqueratina 18 maiores que 395U/l puderam definir a presença de esteato-hepatite com boa acurácia (Wieckowska *et al.*, 2006). Mais recentemente, Charlton e cols. demonstraram uma relação inversa dos níveis de sulfato de dehidroepiandrosterona (DEA) com o estágio da fibrose. Essa observação foi demonstrada em uma coorte de 122 pacientes e reproduzida numa segunda coorte de 361 pacientes com DHGNA (Charlton *et al.*, 2008). É possível que, na presença de resistência a insulina, o excesso de ácidos graxos livres na circulação não sejam convertidos em sulfato de DEA. A baixa produção desse hormônio em pacientes geneticamente suscetíveis pode ser um marcador para a progressão de fibrose na DHGNA.

Vários modelos que reúnem parâmetros clínicos e laboratoriais foram propostos com o objetivo de identificar pacientes com maior gravidade nos achados histopatológicos. Os modelos e testes preditivos de esteato-hepatite não demonstraram boa acurácia (Pagadala *et al.*, 2009). Por outro lado, estudos com

três modelos para avaliação de fibrose apresentaram resultados promissores. Um sistema de escore de fibrose desenvolvido em colaboração com vários centros utilizou seis parâmetros para a construção de uma fórmula: $-1,675 + 0,037 \times \text{idade} + 0,094 \times \text{IMC} + 1,13 \times (0 \text{ na ausência ou } (1) \text{ na presença de diabetes e/ou intolerância a glicose} + 0,99 \times \text{relação AST/ALT} - 0,013 \times \text{contagem de plaquetas} - 0,66 \times \text{albumina}$. Valores superiores a 0,676 e inferiores a -1,455 associaram-se, respectivamente, com a presença e ausência de fibrose avançada. O escore proposto por Angulo e cols. teve boa acurácia em prever fibrose avançada com área sob a curva ROC de 0,88 e poderia evitar a biópsia em até 75% dos pacientes (Angulo *et al.*, 2007). Guha e cols. compararam a acurácia em prever fibrose acentuada de marcadores do turnover da matriz extracelular com o escore descrito anteriormente. Os marcadores de turnover da matriz extracelular, quando combinado ao escore proposto por Angulo e cols. (2007), puderam identificar com melhor acurácia presença de fibrose, fibrose moderada ou fibrose avançada (Guha *et al.*, 2006). Em um estudo recente, marcadores de turnover da matriz extracelular não apresentaram boa acurácia em identificar a presença de fibrose. A dosagem sérica do ácido hialurônico teve a melhor acurácia, principalmente em prever fibrose avançada, com área sob a curva ROC de 0,77 (Malik *et al.*, 2009). Harrison e cols. desenvolveram um escore mais simples, que consiste na soma ponderada de três variáveis: IMC > 28 (1 ponto), relação AST/ALT > ou = 0,8 (2 pontos) e diabetes (1 ponto). Uma soma de 2 a 4 esteve associada com fibrose avançada com uma razão de chances de 17 (IC: 9,2 a 31,9) (Harrison *et al.*, 2008). Ratziu e cols. aplicaram o fibrotest para a identificação de fibrose avançada e encontraram boa acurácia com área sob a curva ROC de 0,86 (Ratziu *et al.*, 2006). O fibrotest combina cinco parâmetros séricos (haptoglobina, bilirrubinas, gama-gt, macroglobulina alfa2 e

apolipoproteína) e foi inicialmente validado para a hepatite C. Apesar da expectativa de incorporar métodos não invasivos à prática clínica, os modelos e testes preditivos ainda necessitam de validação em estudos prospectivos antes de sua ampla utilização.

Pesquisas vêm descrevendo associações de diferentes estágios da DHGNA com polimorfismos em genes envolvidos no transporte e armazenamento de lipídios no fígado, na produção de adipocinas e citocinas, na gênese da fibrose e também em genes que influenciam a geração de espécies oxidantes e que codificam proteínas envolvidas na resposta antioxidante. No futuro, a aplicação de técnicas avançadas na caracterização de genes e proteínas (genômica e proteômica) poderão contribuir para a determinação exata do prognóstico e da resposta a intervenções terapêuticas.

4.11 DHGNA: Tratamento

Com o aumento da prevalência da DHGNA aliado à possibilidade de evolução para cirrose em até 15% dos casos, é fundamental que se identifiquem medidas terapêuticas que reduzam o risco de progressão da doença hepática para suas formas mais graves.

As medidas terapêuticas visam o controle das condições clínicas associadas como obesidade, diabetes mellitus, hiperlipidemia e hipertensão arterial. Mais recentemente, o foco do tratamento passou a ser a resistência à insulina e outros mecanismos envolvidos na patogênese da DHGNA.

A redução do peso através de dieta e prática de exercícios é a medida primordial no tratamento desta condição. Entretanto, existem dificuldades em

sustentar as mudanças de estilo de vida por longo prazo. Os estudos demonstraram que em dois anos de acompanhamento os participantes mantêm a redução de apenas 3 a 4 kg em relação ao peso inicial, e cerca de 20% persistem em programa de atividade física regular (Ratziu e Zelber-Sagi, 2009).

A maior preocupação reside no tratamento dos pacientes com esteato-hepatite, os quais apresentam maior risco de progressão. Persistem dúvidas na literatura em relação ao tratamento farmacológico: Quem são os melhores candidatos ao tratamento? O tratamento a longo prazo é efetivo e seguro? É possível manter o benefício do tratamento após a sua suspensão? Há sinergismo na associação de diferentes fármacos?

A maioria dos estudos incluiu um número inadequado de pacientes, por curto período de acompanhamento, sem avaliação histológica e sem grupo controle. Sendo assim, até o presente momento não existe um tratamento estabelecido para os pacientes com esteato-hepatite não alcoólica.

A redução de peso gradual em cerca de 5% a 10% do peso habitual teve importância na redução de níveis séricos de enzimas hepáticas, bem como redução de esteatose, inflamação e fibrose hepática a BH. Elias e cols. demonstraram redução dos níveis séricos de enzimas hepáticas, da gordura intra-abdominal e da gordura intra-hepática medidas por tomografia computadorizada em pacientes que perderam pelo menos 5% do peso com intervenção dietética (Elias *et al.*, 2009). Por outro lado, a redução excessiva e rápida de peso pode reduzir a esteatose, porém agravar a lesão hepática subjacente (piora da inflamação lobular e fibrose) (Neuschwander-Tetri, 2009). A queda muito acentuada do peso aumenta o fluxo de ácidos graxos livres para o fígado, o qual encontra-se desprovido de proteínas e demais nutrientes, com subsequente peroxidação de lipídios.

Um estudo recente reforçou a importância da dieta e exercício aeróbico diário na melhora histológica da inflamação após 24 meses da intervenção. Em 53 crianças, a proporção do escore de atividade de esteato-hepatite (NAS) de 0 a 2 aumentou de 19% para 77% após a implementação das mudanças de estilo de vida. (Nobili *et al.*, 2008) Num outro estudo, dieta e atividade física reduziram a esteatose hepática num período de nove meses. Houve destaque para o papel da atividade física, já que os pacientes apresentaram redução de apenas 3,2% no IMC (Schafer *et al.*, 2007).

Não apenas a quantidade de calorias, mas também a qualidade da dieta pode contribuir para a resistência a insulina e a lipogênese hepática. A ingesta de alimentos contendo xarope de milho rico em frutose, gorduras trans e poli-insaturados com predomínio de ômega 6 em relação ao ômega 3 podem estar associados a presença de DHGNA. O orlistat, medicamento utilizado para o tratamento da obesidade, reduz em 30% a absorção dos triglicerídeos da dieta. Estudos randomizados não demonstraram diferença significativa na melhora histológica da DHGNA entre os grupos tratados com orlistat ou placebo. Os pacientes que melhoraram foram os que perderam peso, independentemente do tratamento oferecido (Rozenal *et al.*, 1967; Kral *et al.*, 2004). Existem dois tipos principais de cirurgias para obesidade: as disabsortivas e as restritivas. As primeiras deixaram de ser utilizadas atualmente devido ao maior potencial de graves complicações. As cirurgias restritivas e as que combinam mecanismos restritivos e disabsortivos são as mais utilizadas. Não há na literatura estudos que avaliem diretamente o papel da cirurgia bariátrica na DHGNA. Os estudos com outros objetivos primários demonstraram uma melhora da esteatose e também da inflamação e balonização nas biópsias após a cirurgia bariátrica. O efeito em relação

à fibrose foi menos consistente (Pillai e Rinella, 2009). Apesar da possibilidade de descompensação da doença hepática em vigência de perda acentuada e rápida de peso, a cirrose compensada sem evidências de hipertensão portal não é uma contraindicação para a cirurgia bariátrica. Há inclusive alguns relatos de regressão da cirrose (Dallal *et al.*, 2004; Kral *et al.*, 2004).

Agentes antioxidantes, citoprotetores, anticitocinas e medicamentos utilizados para o tratamento do diabetes mellitus e controle da hipertensão arterial e dislipidemia foram estudados no tratamento da DHGNA.

Diversos agentes antioxidantes vêm sendo testados no tratamento da DHGNA. A vitamina E tanto reduz o estresse oxidativo como diminui níveis de citocinas que estimulam a fibrogênese hepática. O uso de vitamina E (1.000UI/dia) e vitamina C (1g/dia) por 24 semanas não resultou numa diferença significativa na redução das enzimas hepáticas e melhora histológica quando comparado ao grupo placebo (Harrison *et al.*, 2003).

O ácido ursodesoxicólico (ursacol), além dos mecanismos imunomodulatórios, atua como citoprotetor direto, reduzindo a apoptose e a necrose celular. Evidências prévias favoreciam a utilização do ursacol em pacientes com DHGNA. Num estudo multicêntrico randomizado não houve melhora dos parâmetros bioquímicos ou histológicos em 168 pacientes tratados com ursacol (13mg a 15mg/kg/dia) por 48 semanas (Lindor *et al.*, 2004). Mais recentemente, um estudo randomizado demonstrou redução de enzimas hepáticas e do fibrotest no grupo de pacientes tratados com ursacol (28mg a 35mg/kg/dia) (Ratziu e Zelber-Sagi, 2009).

A pentoxifilina é um composto que reduz a produção do TNF alfa. Estudos pilotos demonstraram melhora bioquímica e histológica após 6 a 12 meses de tratamento (Adams *et al.*, 2004; Satapathy *et al.*, 2007). Num estudo randomizado

houve melhora das aminotransferases e do grau de inflamação à biópsia hepática após 12 meses de tratamento (Rinella *et al.*, 2009).

Pela importância da resistência a insulina na patogênese da DHGNA, foram avaliados fármacos que elevam a sensibilidade à insulina no tratamento desta condição, mesmo em pacientes sem DM. Maior destaque vem sendo dado às glitazonas, as quais atuam via PPAR γ , estimulando a produção de adiponectina, reduzindo a produção e aumentando a oxidação de ácidos graxos. Desse modo, ocorre redistribuição da gordura para o tecido adiposo, aumentando a sensibilidade à insulina no fígado e músculo. Além disso, as também denominadas tiazolidinedionas atuam diretamente reduzindo a fibrose hepática. O maior benefício da utilização das glitazonas reside na redução dos níveis séricos das aminotransferases e da esteatose hepática. Alguns estudos demonstraram melhora da atividade necroinflamatória (Neuschwander-Tetri, 2003; Belfort *et al.*, 2006; Aithal *et al.*, 2008), enquanto poucos comprovaram redução da fibrose hepática (Neuschwander-Tetri, 2003; Aithal *et al.*, 2008). A maioria dos pacientes selecionados não apresentava DM, e em um estudo a presença desta condição foi um fator preditivo de resposta a rosiglitazona (Ratziu *et al.*, 2008). Apenas três desses estudos foram randomizados com grupo controle e incluíram um número mínimo de 50 pacientes e avaliação histológica ao final do tratamento (Belfort *et al.*, 2006; Aithal *et al.*, 2008; Ratziu *et al.*, 2008). Uma outra questão que se impõe é a necessidade de manutenção do tratamento, pois há evidências de elevação das enzimas hepáticas e piora histológica após suspensão do tratamento (Neuschwander-Tetri, 2003; Lutchman *et al.*, 2007). Resultados de estudos multicêntricos estão sendo aguardados e provavelmente nos trarão mais respostas sobre o uso das glitazonas em pacientes com esteato-hepatite.

Outra medicação utilizada para o tratamento do DM, a metformina, foi estudada na DHGNA. A metformina reduz a produção de glicose hepática ao mesmo tempo que aumenta a sua utilização periférica no músculo esquelético. Foram avaliadas diferentes doses por um período de 6 até 12 meses, com melhora dos níveis séricos de aminotransferases (Uygun *et al.*, 2004; Bugianesi *et al.*, 2005). Houve melhora dos parâmetros histológicos apenas num estudo, porém não foram realizadas biópsias hepáticas ao término do tratamento no grupo controle (Bugianesi *et al.*, 2005). Como também não foram incluídos pacientes com DM nos estudos com metformina, não sabemos qual o seu papel no tratamento de pacientes diabéticos com esteato-hepatite.

O sistema renina-angiotensina parece estar envolvido na fibrogênese hepática. Em um estudo com um pequeno número de pacientes houve melhora da inflamação e fibrose em pacientes tratados com losartan (50mg/dia) por 48 semanas (Yokohama *et al.*, 2004). Alguns antagonistas do receptor de angiotensina, como telmisartan e irbesatan, também são agonistas parciais do receptor PPAR γ e podem ter ação no tratamento da resistência a insulina.

Dietas e medicamentos hipolipemiantes têm sido utilizados para o controle da hipercolesterolemia e, principalmente, da hipertrigliceridemia associada a DHGNA. Estudos com gemfibrozil (600mg/dia) por quatro semanas, probucol (500mg/dia) por 12 meses e atorvastatina (10mg a 30mg/dia) por um ano obtiveram resultados favoráveis (Basaranoglu *et al.*, 1999; Horlander *et al.*, 2001; Merat *et al.*, 2008). No entanto, apenas nos estudos com o probucol e a atorvastatina foram realizadas biópsias de seguimento para confirmar a melhora histológica.

5 PACIENTES E MÉTODOS

5.1 Local do estudo

Ambulatório de Diabetes Mellitus tipo 2 – Serviço de Clínica Médica (CM) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

5.2 Desenho do estudo

Estudo seccional envolvendo uma coorte de pacientes com DM2 acompanhada no ambulatório de DM2 – CM, incluídos no período de agosto de 2004 a novembro de 2008.

5.2.1 Pacientes

Os pacientes foram encaminhados dos ambulatórios de clínica médica ou demais especialidades clínicas e cirúrgicas do HUCFF. Foram incluídos pacientes entre 18 e 65 anos que preenchiam os critérios da Associação Americana de Diabetes para o Diagnóstico de DM. (Genuth *et al.*, 2003):

1. Sintomas de DM (poliúria, polidipsia e emagrecimento inexplicado) e medida de glicose plasmática $>$ ou $=$ 200mg/dl em medida casual (qualquer hora do dia).

Ou

2. Medida da glicemia plasmática $>$ ou $=$ 126mg/dl em jejum (nenhuma ingestão calórica por oito horas). É necessária a confirmação desses critérios num segundo exame para o diagnóstico de DM.

Ou

3. Medida da glicemia plasmática $>$ ou $=$ 200mg/dl após duas horas de sobrecarga de glicose (75g de glicose anidra). É necessária a confirmação desses critérios num segundo exame para o diagnóstico de DM.

Foram incluídos também pacientes com diagnóstico prévio de DM, já em uso de hipoglicemiantes orais. Os pacientes com DM em uso de insulina só foram incluídos quando foram tratados com hipoglicemiantes orais por pelo menos um ano antes do início da terapêutica com insulina.

Foram excluídos do estudo:

1. Pacientes com ingestão alcoólica superior a 30g de etanol por dia (sexo masculino) e 20g de etanol por dia (sexo feminino) nos últimos cinco anos.
2. Pacientes com infecção pelo vírus da hepatite B, da hepatite C e/ou HIV.
3. Pacientes em uso de medicamentos que podem causar esteatose hepática (Isoniazida, Methotrexate, Alopurinol, Metildopa, Corticosteroides, Tamoxifen, Ácido valproico, Tetraciclina e Amiodarona) nos últimos seis meses.

Foram excluídos da análise histológica do estudo:

1. Pacientes com contraindicações absolutas e relativas à realização de biópsia hepática percutânea.

2. Pacientes que desenvolveram ao longo do estudo:

Complicações clínicas incapacitantes pelo diabetes (amaurose, insuficiência renal em estágio final, seqüela de acidente vascular encefálico, doença coronariana grave ou instável, doença vascular periférica avançada com amputação de membros inferiores); neoplasias ou complicações clínicas da doença hepática crônica.

Todos os pacientes forneceram termo de consentimento por escrito (anexo II) e o protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho – Faculdade de Medicina em 02/06/2005 sob o número 083/05-CEP.

Todos os pacientes foram inicialmente submetidos a um protocolo padrão que incluía o registro de dados sociodemográficos, avaliação da história e exame clínico completo, medidas antropométricas, avaliação laboratorial e ultrassonográfica. Esses dados foram registrados na ficha de cadastro (anexo I), preenchida na admissão pelos médicos responsáveis pelo ambulatório de DM2 - CM. As seguintes variáveis foram analisadas:

5.2.2 Variáveis sociodemográficas

- Idade
- Sexo
- Cor: Definida pelo fenótipo e classificada em brancos e não-brancos.
- Escolaridade: Classificada em dois grupos:
 - analfabetos e pacientes com curso incompleto do ensino fundamental.

- o pacientes com o curso completo do ensino fundamental.

5.2.3 Medidas antropométricas

Peso e altura

Índice de massa corporal = peso em kg/altura em m²: obesidade era diagnosticada quando o IMC era > ou = a 30kg/m².

Medida da circunferência abdominal em cm, medida do quadril em cm, relação da circunferência abdominal/quadril: A circunferência abdominal era medida com fita métrica no plano horizontal, à metade da distância entre o último arco costal e crista ilíaca no final da expiração normal de acordo com Callaway e colaboradores. (Callaway *et al.*, 1991). A circunferência abdominal foi considerada elevada quando maior do que 88cm em mulheres e maior do que 102cm em homens (NCEP – ATP III, 2002). A medida do quadril era a medida da maior circunferência ao nível do quadril.

5.2.4 Dados clínicos

Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2): Foram avaliados o tempo do diagnóstico e as medicações utilizadas no tratamento do DM2. O tempo do diagnóstico de DM2 foi definido pela história clínica e confirmado, quando possível, pelas informações obtidas no prontuário médico.

Complicações microvasculares do diabetes:

Retinopatia diabética (não-proliferativa ou proliferativa) definida pela avaliação de fundo de olho por oftalmologista, laudo de retinografia e/ou angiografia

com fluoresceína; história de tratamento prévio com fotocoagulação.

Nefropatia definida como: subclínica (duas medidas com microalbuminúria de 30 a 300mg/24 horas); clínica (duas medidas com proteinúria > 500mg/24 horas); insuficiência renal (clearance de creatinina, pela fórmula de Cockcroft- Gault, < ou = 60ml/min ou creatinina > 1,4mg/dl).

Neuropatia periférica: Anormalidades clínicas na ausência de outras etiologias detectadas pela pesquisa dos reflexos patelar e aquileu, sensibilidade tátil dos pés com monofilamento Semmes-Weinstein 5,07 e sensibilidade vibratória com o diapasão de 128Hz. Neuropatia era definida pela presença de duas ou mais das seguintes alterações: sintomas, percepção da sensibilidade vibratória reduzida, insensibilidade ao monofilamento, ausência dos reflexos tendinosos.

Complicações macrovasculares do diabetes:

Doença coronariana definida por sintomas sugestivos de angina, infarto prévio, exames não invasivos ou invasivos que comprovem a sua existência ou história de procedimentos prévios de revascularização miocárdica.

Doença cerebrovascular definida pela presença de sopro carotídeo ou redução de pulso carotídeo ou história de ataque isquêmico transitório ou acidente vascular isquêmico.

Doença arterial periférica definida pela presença de claudicação intermitente ou ausência de pulsos tibiais posteriores e pediosos ou história de procedimentos prévios de revascularização dos membros inferiores ou amputações acima do tornozelo ou índice tornozelo-braquial < 0,9.

Hipertensão arterial sistêmica (HAS): HAS era diagnosticada se PA era > ou

= 140 ou PA diastólica \geq 90mm de Hg ou em caso de uso de medicações anti-hipertensivas. Foram avaliados o tempo do diagnóstico e medicações utilizadas no tratamento da hipertensão arterial sistêmica (HAS).

Hiperlipidemia e tipo da hiperlipidemia: A hiperlipidemia com predomínio de hipercolesterolemia se o LDL colesterol $>$ 160mg/dl, com predomínio de hipertrigliceridemia se triglicerídeos séricos $>$ 150mg/dl e mista se ambos estavam presentes. A hiperlipidemia também foi considerada presente se o paciente estivesse em uso de estatina ou fibrato. Foram avaliadas as medicações utilizadas no tratamento da hiperlipidemia.

História de ingestão alcoólica: Foram determinados o tipo, a quantidade e a duração do consumo de bebidas alcoólicas.

História de tabagismo e carga tabágica.

Atividade física: A atividade física regular foi definida como a prática de exercícios por no mínimo 30 minutos por pelo menos cinco dias na semana.

5.2.5 Variáveis laboratoriais

A avaliação laboratorial foi realizada por métodos automatizados e incluiu:

- ✓ Hemograma completo, com contagem de plaquetas (contagem automatizada por impedância e laser); Kit Dade Behring DimensionR

- ✓ Glicemia em jejum (enzimático automatizado); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Glicemia pós-prandial (duas horas após o desjejum) (enzimático automatizado); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Hemoglobina glicosilada (inibição colorimétrica); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Colesterol sérico e frações (LDL,HDL, triglicerídeos) (enzimático colorimétrico); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Creatinina (Jaffe modificado); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Ácido úrico (uricase automatizado); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Ferro (ferrene), saturação de transferrina (ferrene); Kit Dade Behring DimensionR. Ferritina (quimioluminescência); Kit Immulite 2000
- ✓ Hormônio estimulante da tireoide (TSH) (quimioluminescência) e T4 livre (quimioluminescência); Kit Immulite 2000
- ✓ Proteína C de alta sensibilidade (nefelometria); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Microalbuminúria (imunonefelometria); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Proteína e creatinina urinárias, avaliadas por duas coletas estéreis não consecutivas de urina de 24 horas (biureto/Jaffe automatizado); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Proteína total e frações (verde bromocressol automatizado); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Tempo e atividade de protrombina (fotometria automatizada); Kit Dade Behring DimensionR
- ✓ Bilirrubina total e frações (colorimétrico); Kit Dade Behring DimensionR

- ✓ Enzimas hepáticas (Kit Dade Behring DimensionR):
ALT (método cinético: até 65U/l) e AST (método cinético: até 37U/l):
 - As dosagens foram repetidas três vezes com intervalo de quatro semanas. Foi calculada a média dos valores obtidos nas três dosagens iniciais.
 - O índice AST/ALT foi considerado como o valor numérico da divisão do valor de aspartato aminotransferase pelo valor de alanina aminotransferase.
- ✓ Gama-GT (método cinético: 85U/l)
 - As dosagens foram repetidas três vezes com intervalo de quatro semanas. Foi calculada a média dos valores obtidos nas três dosagens iniciais.
- ✓ Fosfatase alcalina (método cinético: 136 U/l)

A partir de julho de 2008 houve mudança nos valores de referência das enzimas hepáticas: fosfatase alcalina (método cinético: 104U/l), gama-glutamilttransferase (método cinético: 39U/l), alanina aminotransferase (método cinético: 31U/l) aspartato aminotransferase (método cinético: 31U/l). Foram então avaliados, além do valor absoluto das enzimas hepáticas, o número de vezes o valor superior da normalidade.

5.2.6 Ultrassonografia

Todos os pacientes foram submetidos a ultrassonografia abdominal com o mesmo examinador utilizando o mesmo equipamento (Siemens G50, transdutor 3,5 MHz, Siemens, Alemanha) para avaliação do tamanho e ecotextura do fígado.

Foram utilizados como critérios de esteatose: fígado aumentado de volume com aspecto “brilhante”, com ecogenicidade aumentada em comparação aos rins, redução da visualização do lume de veias hepáticas e diafragma. Quanto à intensidade do aumento da ecogenicidade, a esteatose foi classificada em: leve (aumento da ecogenicidade e visualização normal de vasos e diafragma); moderada (aumento maior da ecogenicidade e leve redução da visualização de vasos e diafragma); grave (aumento marcante da ecogenicidade e ausência da visualização de vasos e diafragma).

Para avaliação da reprodutibilidade, pelo menos 10% dos pacientes incluídos no estudo foram submetidos a uma nova avaliação com um segundo examinador com um intervalo de até seis meses do primeiro exame. Na segunda avaliação foi utilizado o mesmo equipamento e os critérios para avaliação da presença e quantificação da esteatose adotados foram os mesmos.

5.2.7 Biópsia hepática

Após a avaliação inicial, os pacientes com critérios ultrassonográficos para esteatose ou aqueles que apresentaram duas de três medidas consecutivas da ALT e/ou AST acima do normal, que concordaram e não apresentaram os critérios de exclusão, foram submetidos à biópsia hepática por via percutânea em regime ambulatorial no HUCFF. A biópsia foi realizada por hepatologista experiente, mas apenas após consentimento informado das complicações inerentes ao procedimento (anexo III). Os pacientes permaneceram no hospital com monitorização dos sinais vitais e quaisquer sintomas até que fossem afastadas as complicações iniciais inerentes ao procedimento. Após a liberação, se apresentasse quaisquer sintomas,

o paciente deveria contatar os pesquisadores responsáveis para receber orientação e, caso necessário, avaliação e tratamento adequados no HUCFF.

As amostras foram encaminhadas ao Serviço de Anatomia Patológica do HUCFF, onde foram medidas suas dimensões para depois serem submetidas à inclusão em parafina e a cortes de cinco micra. Foram utilizadas as colorações de hematoxilina-eosina, reticulina de gomori, tricrômico de masson, PAS e Perls. Todas as lâminas foram avaliadas por dois patologistas de forma independente e os critérios adotados para graduação e estadiamento da DHGNA foram os propostos por Kleiner e cols (Kleiner *et al.*, 2005) (anexo IV).

O escore de atividade da esteato-hepatite (NAFLD Activity Score, ou NAS) é definido como a soma de pontos da graduação da esteatose (0 a 3), inflamação lobular (0 a 3) e balonização (0 a 2). O total de pontos pode variar de 0 a 8 (Kleiner *et al.*, 2005). O escore foi categorizado em maior ou igual a cinco e menor que cinco.

O diagnóstico de esteato-hepatite foi estabelecido pela presença de esteatose superior a 5% acompanhada de algum foco de inflamação lobular e balonização de hepatócitos, independentemente da pontuação do escore de atividade ou NAS. O grau de fibrose foi categorizada em fibrose ausente ou leve (F0 a F1) e moderada ou acentuada (F2 a 4). Quando a concordância entre os patologistas foi inferior à substancial (κ inferior a 0,6) para um determinado parâmetro histológico, utilizamos a análise com o pior e o melhor escore. Para cada parâmetro da classificação de Kleiner foi considerado “melhor escore” aquele resultante das menores pontuações fornecidas pelos patologistas. Para a análise do “pior escore” consideramos as maiores pontuações fornecidas pelos patologistas.

5.3 Cálculo amostral e análise estatística

O principal objetivo deste estudo de corte transversal era estimar a prevalência de DHGNA em pacientes diabéticos. Inicialmente para uma prevalência estimada de 30% o número amostral foi de 127 pacientes.

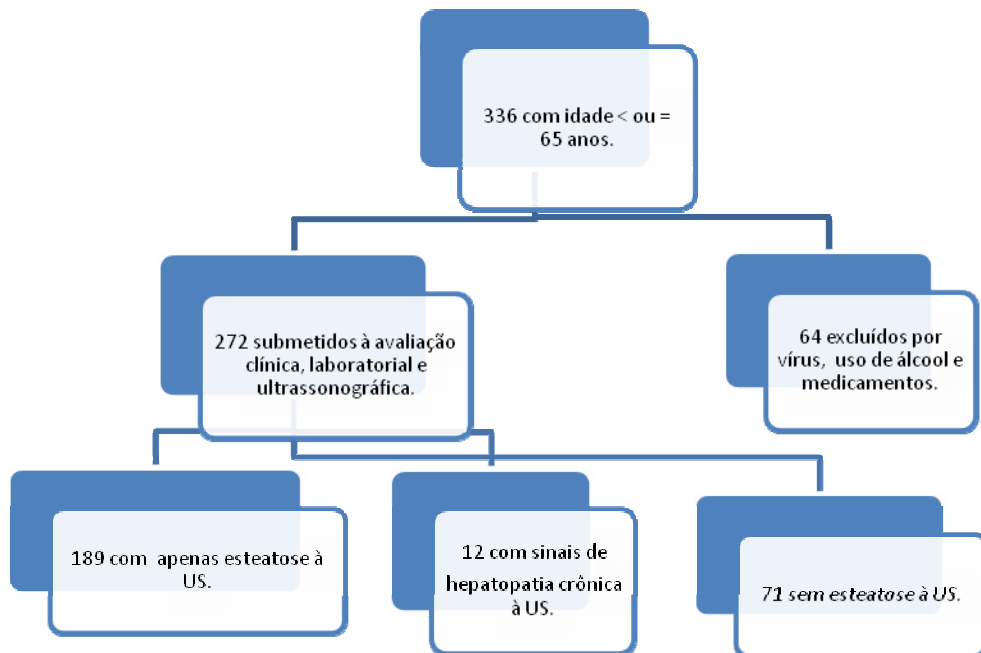
Os dados foram analisados com o pacote estatístico SPSS 13. As variáveis contínuas foram descritas através de médias e desvios padrões, em caso de distribuição normal, ou como medianas e intervalos interquartis, em caso de distribuição assimétrica. As comparações bivariadas entre pacientes com ou sem esteato-hepatite ou fibrose à biópsia hepática foram realizadas através do teste de t não pareado para variáveis contínuas simétricas ou teste de Mann-Whitney para variáveis contínuas assimétricas. Os testes de qui-quadrado e de Fisher foram utilizados para comparações entre variáveis categóricas. A análise de variância (Anova) foi utilizada para a comparação dos grupos de acordo com o grau de esteatose a US através do teste de Dunnett's pos hoc (com a categoria sem esteatose como referência). As análises de concordância interobservador para presença e quantificação de esteatose à ultrassonografia e para a avaliação dos parâmetros histopatológicos foram feitas pelos coeficientes de Kappa e Kappa ponderado.

Foi realizada análise de regressão logística múltipla para a identificação das variáveis que se associaram de forma independente com a presença de esteato-hepatite e fibrose moderada/acentuada. As variáveis com $p < 0,20$ na univariada foram selecionadas para inclusão nos modelos de regressão logística múltipla. Em relação aos modelos para esteato-hepatite, as variáveis candidatas foram HDL-colesterol (categorizada e contínua), triglicérides (categorizada e contínua), ALT

(categorizada e contínua), Gama-GT (contínua), proteína C ultrasensível (contínua), ácido úrico (contínua), presença de neuropatia, uso de estatinas e álcool (ex/atual). Em relação aos modelos para fibrose moderada/acentuada, as variáveis candidatas foram ALT (categorizada e contínua), Gama-GT (categorizada e contínua), AST (categorizada e contínua), LDL-colesterol (contínua), bilirrubina total (contínua), plaqueta (contínua), ferritina (contínua), ácido úrico (contínua), relação cintura-quadril (contínua), álcool (ex/atual), atividade física, dislipidemia, uso de estatinas, de AAS e de insulina. Todos os modelos foram ajustados para idade e sexo, independentemente do valor de p na análise univariada.

6 RESULTADOS

Durante o período do estudo 336 pacientes preencheram os critérios de inclusão. Foram excluídos 26 pacientes com ingestão alcoólica superior a 30g de etanol por dia (sexo masculino) e 20g de etanol por dia (sexo feminino) nos últimos cinco anos, 34 com infecção pelos vírus da hepatite B e C e quatro com uso de medicamentos que levam à esteatose hepática. Foram submetidos à avaliação clínica, laboratorial e ultrassonográfica 272 pacientes (Figura 1).



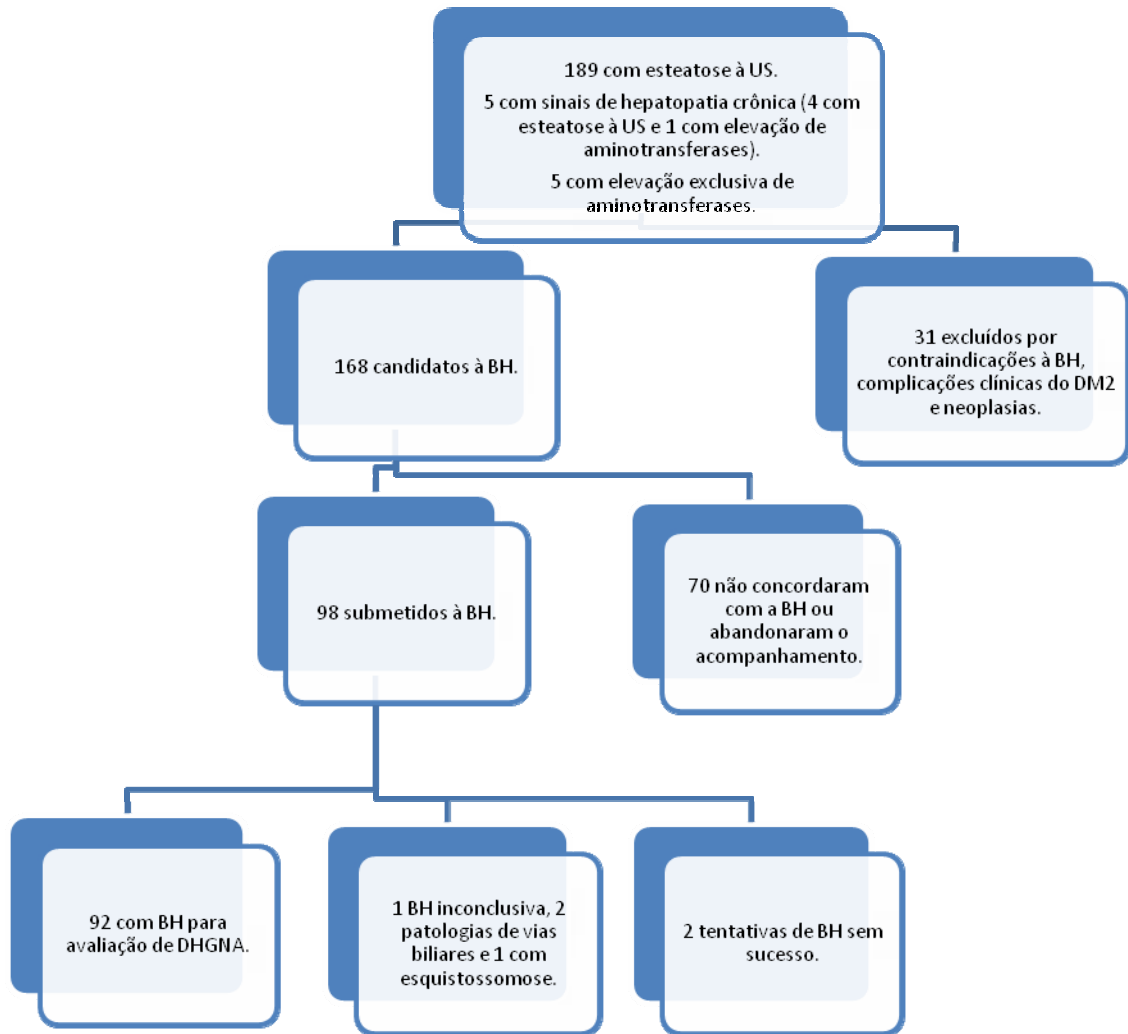


Figura 1 Algoritmo do estudo

6.1 Análise descritiva dos pacientes incluídos no estudo

As características sociodemográficas, as medidas antropométricas, os dados clínicos e os exames laboratoriais dos 272 pacientes diabéticos incluídos no estudo são apresentados nas tabelas.

Tabela 1 Características sociodemográficas dos pacientes diabéticos incluídos no estudo (n=272)

Variáveis sociodemográficas	Pacientes (n=272)
Sexo feminino	175 (64%)
Cor branca	166 (61%)
Idade (anos)	55,6 (7,1)
Escolaridade (até fundamental incompleto)	164 (60%)
Álcool (ex e atual)	77 (28%)
Tabagismo (ex e atual)	114 (42%)
Atividade física regular	62 (23%)

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 2 Medidas antropométricas dos pacientes diabéticos incluídos no estudo (n=272)

Medidas antropométricas	Pacientes (n=272)
CA (cm)	102,0 (11,4)
CA (>102cm em homens e >88cm em mulheres)	191 (70%)
Relação cintura/quadril	0,99 (0,01)
IMC (kg/m ²)	29,9 (5,1)
Obesidade	125 (46%)

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 3 Condições clínicas associadas dos pacientes diabéticos incluídos no estudo (n=272)

Condições clínicas associadas	Pacientes (n=272)
Hipertensão arterial	230 (85%)
Tratamento da HAS	
Inibidores da ECA	193 (71%)
Antagonistas do receptor de angiotensina	10 (4%)
Dislipidemia	241 (89%)
Tratamento da dislipidemia	
Estatinas	206 (76%)
Fibratos	12 (4%)
AAS	249 (91%)

Tabela 4 Dados clínicos relacionados ao DM nos pacientes incluídos no estudo (n=272)

Dados relacionados ao DM	Pacientes (n=272)
Tempo de DM (anos)	7,0 (0,1-38,0)
Tratamento do DM	
Metformina	233 (86%)
Insulina	137 (50%)
Sulfonilureias	108 (40%)
Complicações microvasculares	
Retinopatia	89 (33%)
Nefropatia	90 (33%)
Microalbuminúria	82 (30%)
Neuropatia periférica	66 (24%)
Complicações macrovasculares	
Doença arterial coronariana	43 (16%)
Doença cerebrovascular	24 (9%)
Doença arterial periférica	41 (15%)

São apresentados nas tabelas 3 e 4 os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 5 Características laboratoriais dos pacientes diabéticos incluídos no estudo (n=272)

Variáveis laboratoriais	Pacientes (n=272)
Glicemia de jejum (mg/dl)	132 (51-501)
Hemoglobina glicada (%)	7,6 (4,1-15,6)
Ácido úrico (mg/dl)	4,8 (1,9-10,7)
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,4-1,9)
Colesterol total (mg/dl)	199 (47)
HDL-colesterol (mg/dl)	40 (15-91)
LDL-colesterol (mg/dl)	121 (41)
Triglicerídeos (mg/dl)	142 (34-1207)
TSH (μ UI/ml)	1,9 (0,1-31,2)
Fosfatase alcalina elevada	20 (7%)
Fosfatase alcalina (U/L)	82 (16-393)
ALT (x normal)	0,60 (0,23-6,52)
Média de ALT (U/L)	39 (10-202)
ALT elevada	29 (11%)
AST (x normal)	0,57 (0,27-3,54)
Média de AST (U/L)	22 (10-131)
AST elevada	34 (12%)
Índice AST/ALT	0,54 (0,29-3,12)
Gama-GT (x normal)	0,47 (0,15-21,05)
Média de Gama-GT (U/L)	40 (12-1772)
Gama-GT elevada	36 (13%)
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	251.559 (72.399)
Ferritina (μ g/L)	147 (6-1.803)
Proteína C (mg/L)	3,0 (0,1-95,0)
Bilirrubina (mg/dl)	0,4 (0,2-2,7)
Protrombina (INR)	1,0 (0,8-1,7)
Albumina (g/dl)	4,0 (0,4)
Microalbuminúria (mg/24h)	15 (2-3.629)
Clearance de creatinina (ml/min/1,73m ²)	101 (38)

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

6.2 Avaliação ultrassonográfica dos pacientes incluídos no estudo

Dos 272 pacientes que foram submetidos a US abdominal, 12 (4%) apresentavam aspecto compatível com hepatopatia crônica. Dos 260 restantes, 189 (73%) tinham apenas esteatose e 71 (27%) não apresentavam anormalidades a US. Dentre os 189 pacientes a esteatose foi leve em 78 (41%), moderada em 86 (46%) e acentuada em 25 (13%).

Analizamos a reprodutibilidade da avaliação e quantificação da esteatose repetindo a US abdominal em 37 (14%) dos 260 pacientes. A concordância interexaminador para a presença da esteatose foi superior à concordância para a quantificação da esteatose. (Quadro 1)

Quadro 1 Concordância interexaminador para a presença e quantificação da esteatose (n=37)

Variáveis ultrassonográficas	Kappa
Esteatose	0,82 (IC 95%: 0,59 a 1,0)
Quantificação da esteatose	0,70 (kappa ponderado)

6.3 Análise comparativa de acordo com a presença de esteatose a US

As tabelas 6 a 10 apresentam as características sociodemográficas, medidas antropométricas, dados clínicos e variáveis laboratoriais nos 260 pacientes com e sem esteatose a US. Os pacientes com esteatose apresentavam maiores valores de IMC, circunferência abdominal, relação de cintura/quadril, além dos níveis de triglicerídeos séricos, de proteína C e de enzimas hepáticas. Em relação aos dados clínicos do diabetes, a frequência da retinopatia foi menor e o uso de metformina foi maior nos pacientes com esteatose.

Tabela 6 Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de esteatose (n=260)

Variáveis sociodemográficas	Pacientes sem esteatose (n=71)	Pacientes com esteatose (n=189)	p-valor
Sexo feminino	48 (68%)	123 (65%)	0,70
Cor branca	42 (59%)	116 (61%)	0,90
Idade (anos)	54,7 (7,8)	55,7 (6,9)	0,32
Álcool (ex e atual)	15 (21%)	54 (29%)	0,23
Tabagismo (ex e atual)	32 (45%)	77 (41%)	0,55
Atividade física regular	14 (20%)	44 (23%)	0,54

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 7 Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de esteatose (n=260)

Medidas antropométricas	Pacientes sem esteatose (n=71)	Pacientes com esteatose (n=189)	p-valor
CA (cm)	95,2 (8,2)	105,0 (11,2)	<0,001
CA (>102cm e > 88cm)	38 (54%)	150 (80%)	<0,001
Relação cintura/quadril	0,97 (0,12)	1,00 (0,12)	0,01
IMC (kg/m ²)	26,8 (3,6)	31,2 (5,1)	<0,001
Obesidade	13 (18%)	108 (57%)	<0,001

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 8 Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de esteatose (n=260)

Condições clínicas associadas	Pacientes sem esteatose (n=71)	Pacientes com esteatose (n=189)	p-valor
Hipertensão arterial	56 (79%)	166 (88%)	0,07
Tratamento da HAS			
Inibidores da ECA	51 (72%)	134 (71%)	0,88
Antagonistas do receptor de Angiotensina	2 (3%)	8 (4%)	0,73
Dislipidemia	62 (87%)	170 (90%)	0,54
Tratamento da dislipidemia			
Estatinas	54 (76%)	145 (77%)	0,91
Fibratos	2 (3%)	10 (5%)	0,52
AAS	64 (91%)	176 (95%)	0,39

Tabela 9 Análise comparativa dos dados clínicos relacionados ao DM de acordo com a presença de esteatose (n=260)

Dados relacionados ao DM	Pacientes sem esteatose (n=71)	Pacientes com esteatose (n=189)	p-valor
Tempo de DM (anos)	8,5 (0,10-30,0)	7,0 (0,10-34,0)	0,27
Tratamento do diabetes			
Metformina	52 (73%)	173 (91%)	<0,001
Sulfonilureias	23 (32%)	80 (42%)	0,14
Insulina	41 (58%)	90 (48%)	0,15
Complicações microvasculares			
Retinopatia	31 (45%)	54 (29%)	0,02
Nefropatia	28 (39%)	56 (30%)	0,16
Microalbuminúria	22 (31%)	54 (29%)	0,75
Neuropatia periférica	20 (28%)	43 (23%)	0,36
Complicações macrovasculares			
Doença arterial coronariana	10 (14%)	31 (16%)	0,65
Doença cerebrovascular	4 (6%)	20 (11%)	0,22
Doença arterial periférica	13 (18%)	26 (14%)	0,36

São apresentados nas tabelas 8 e 9 os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 10 Análise comparativa das variáveis laboratoriais de acordo com a presença de esteatose (n=260)

Variáveis laboratoriais	Pacientes sem esteatose (n=71)	Pacientes com esteatose (n=189)	p-valor
Glicemia de jejum (mg/dl)	140 (56-350)	143 (51-501)	0,34
Hemoglobina glicada (%)	7,5 (5,6-15,6)	7,6 (4,1-14,9)	0,67
Ácido úrico (mg/dl)	4,6 (2,5-9,4)	4,9 (1,9-10,7)	0,15
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,4-1,9)	0,8 (0,4-1,8)	0,66
Colesterol total (mg/dl)	195 (51)	202 (46)	0,10
HDL-colesterol (mg/dl)	43 (25-85)	39 (15-91)	0,02
LDL-colesterol (mg/dl)	122 (43)	121 (40)	0,86
Triglicerídeos (mg/dl)	115 (38-563)	157 (34-1207)	0,002
Hipertrigliceridemia (150 mg/dl)	24 (34%)	100 (53%)	0,005
Fosfatase alcalina elevada	8 (10%)	12 (6%)	0,28
Fosfatase alcalina (U/L)	81(18-393)	82 (16-237)	0,32
ALT (x normal)	0,55 (0,29-6,52)	0,65 (0,23-2,18)	<0,001
Média de ALT (U/L)	37 (10-220)	40 (14-142)	0,004
ALT elevada	4 (6%)	24 (13%)	0,09
AST (x normal)	0,54 (0,30-2,70)	0,57 (0,27-3,54)	0,06
Média de AST (U/L)	21(12-95)	22 (10-131)	0,04
AST elevada	6 (8%)	8 (14%)	0,24
Índice AST/ALT	0,57 (0,33-1,80)	0,51 (0,29-3,12)	0,02
Gama-GT (x normal)	0,41(0,15-21,05)	0,47 (0,15-3,20)	0,01
Média de Gama-GT (U/L)	34 (12-1772)	40 (13-271)	0,009
Gama-GT elevada	5 (7%)	27 (14%)	0,11
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	252.605 (81.083)	254.529 (66.337)	0,84
Ferritina (µg/l)	146 (25-860)	151,8 (6-1.803)	0,08
Proteína C (mg/L)	2,3 (0,1-95,0)	3,4 (0,2-69,0)	0,01
Bilirrubina (mg/dl)	0,4 (0,2-1,4)	0,4 (0,2-1,6)	0,61
Protrombina (INR)	1,0 (0,9-1,2)	1,0 (0,8-1,2)	0,73
Albumina (g/dl)	4,0 (0,5)	4,0 (0,4)	0,71
Microalbuminúria (mg/24h)	13 (3-3629)	14 (2-3616)	0,60
Clearance de creatinina (ml/min/1,73m ²)	89 (34)	105 (37)	0,002

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

A análise de variância demonstrou um aumento dos valores da CA, IMC e níveis de triglicerídeos séricos com o aumento do grau de esteatose pela US. Pacientes com qualquer grau de esteatose apresentaram CA e IMC significativamente maiores em comparação àqueles sem esteatose a US (Gráficos 1 e 2).

Os níveis de triglicerídeos foram significativamente mais elevados no grupo de pacientes com esteatose moderada e elevada do que naqueles sem esteatose (Gráfico 3).

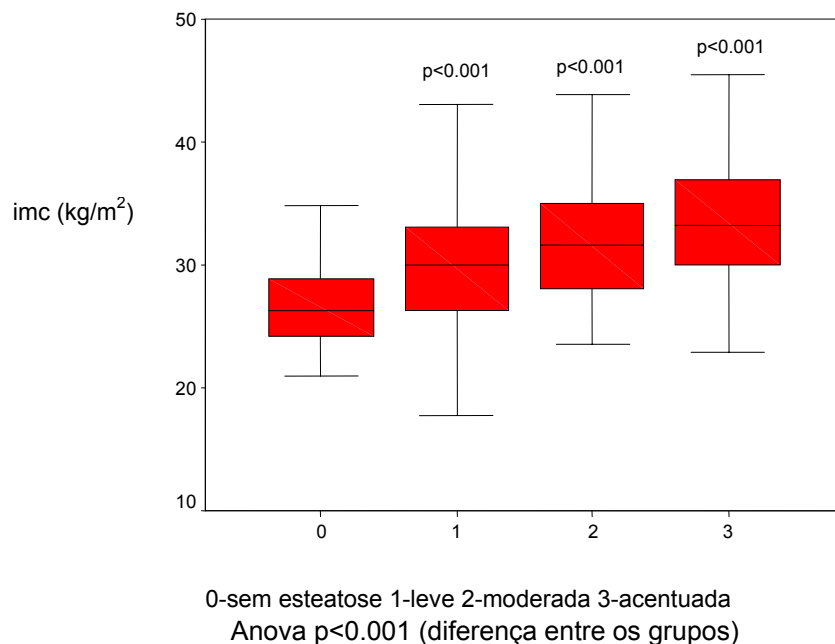


Gráfico 1 Comparação do índice de massa corporal (IMC) de acordo com o grau de esteatose a US

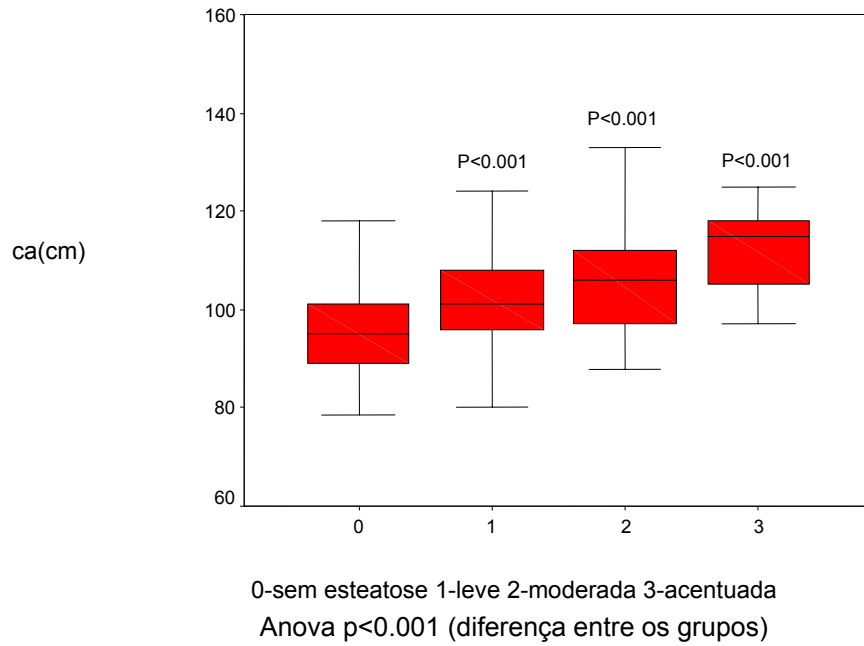


Gráfico 2 Comparação dos valores de circunferência abdominal (CA) de acordo com o grau de esteatose a US

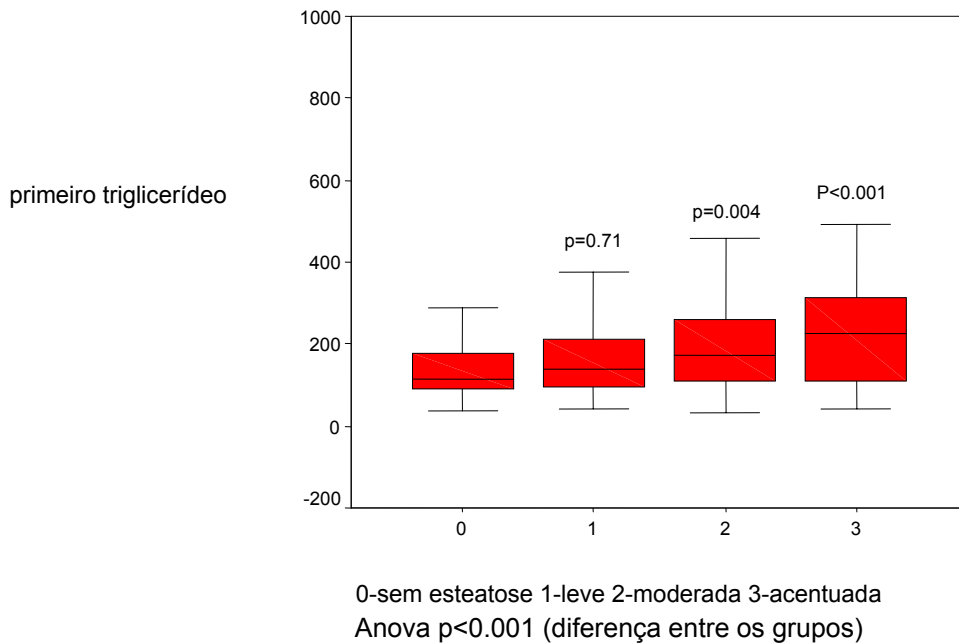


Gráfico 3 Comparação dos valores de triglicérideos de acordo com o grau de esteatose a US

6.4 Análise comparativa de acordo com a realização ou não de BH

Além dos 189 pacientes que tinham esteatose a US abdominal, foram também candidatos a BH: cinco por elevação exclusiva de aminotransferases e cinco com sinais de hepatopatia crônica a US abdominal (quatro também com esteatose a US abdominal e um com elevação de aminotransferases). Dois desses cinco apresentavam sinais de hipertensão portal a US abdominal. Outros sete pacientes com sinais de hepatopatia crônica a US não foram submetidos a BH por não apresentarem os critérios de seleção para a avaliação histológica. Cinco desses sete pacientes já apresentavam hipertensão portal a US abdominal e sinais clínicos de insuficiência hepática e hipertensão portal.

Dentre os 199 candidatos à avaliação histológica, foram excluídos 21 pacientes por complicações clínicas relacionadas ao DM2, dois por neoplasias e oito por contraindicações absolutas a BH. Setenta pacientes recusaram ou abandonaram o acompanhamento antes da realização da BH.

Analisamos as diferenças nas variáveis sociodemográficas, clínicas, laboratoriais e ultrassonográficas entre os 98 pacientes que foram submetidos e os 70 que não foram submetidos a BH. (tabelas 11, 12, 13, 14 e 15).

Tabela 11 Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – variáveis sociodemográficas

Variáveis sociodemográficas	Pacientes sem BH (n=70)	Pacientes com BH (n=98)	p-valor
Sexo feminino	46 (66%)	62 (63%)	0,74
Cor branca	40 (57%)	68 (69%)	0,19
Idade (anos)	56 (37-67)	57 (32-65)	0,18
Álcool (ex e atual)	23 (33%)	27 (28%)	0,46
Tabagismo (ex e atual)	29 (42%)	36 (37%)	0,49
Atividade física regular	14 (20%)	28 (29%)	0,21

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 12 Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – variáveis antropométricas

Medidas antropométricas	Pacientes sem BH (n=70)	Pacientes com BH (n=98)	p-valor
CA (cm)	105,3 (13,0)	104,9 (10,0)	0,83
CA (> 102cm e > 88cm)	50 (72%)	79 (81%)	0,22
Relação cintura/quadril	1,01 (0,08)	1,00 (0,08)	0,55
IMC (kg/m ²)	30,8 (6,0)	31,2 (4,6)	0,65
Obesidade	37 (53%)	57 (58%)	0,49

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas.

Tabela 13 Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – condições clínicas associadas

Condições clínicas associadas	Pacientes sem BH (n=70)	Pacientes com BH (n=98)	p-valor
Hipertensão arterial	58 (83%)	87 (89%)	0,27
Tratamento da HAS			
Inibidores da ECA	48 (69%)	69 (71%)	0,80
Antagonistas do receptor de angiotensina	2 (3%)	4 (4%)	0,67
Dislipidemia	60 (86%)	85 (87%)	0,85
Tratamento da dislipidemia			
Estatinas	52 (74%)	71 (72%)	0,79
Fibratos	3 (4%)	6 (6%)	0,60
AAS	69 (97%)	85 (89%)	0,021

Tabela 14 Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – variáveis relacionadas ao diabetes

Variáveis relacionadas ao DM	Pacientes sem BH (n=70)	Pacientes com BH (n=98)	p-valor
Tempo de DM (anos)	7 (0,1-27)	5 (0,1-38)	0,11
Tratamento do DM			
Metformina	61 (87%)	93 (95%)	0,07
Sulfonilureias	24 (34%)	47 (48%)	0,08
Insulina	36 (51%)	39 (40%)	0,13
Complicações microvasculares			
Retinopatia	24 (34%)	20 (21%)	0,05
Nefropatia	17 (24%)	28 (29%)	0,52
Microalbuminúria	17 (24%)	27 (28%)	0,59
Neuropatia periférica	17 (24%)	18 (18%)	0,35
Complicações macrovasculares			
Doença arterial coronariana	6 (9%)	12 (12%)	0,45
Doença cerebrovascular	3 (4%)	9 (9%)	0,22
Doença arterial periférica	5 (7%)	12 (12%)	0,28

São apresentados nas tabelas 13 e 14 os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 15 Análise comparativa dos pacientes com e sem BH – variáveis laboratoriais e ultrassonográficas

Variáveis laboratoriais e ultrassonográficas	Pacientes sem BH (n=70)	Pacientes com BH (n=98)	p-valor
Glicemia de jejum (mg/dl)	143 (51-501)	141 (61-373)	0,92
Hemoglobina glicada (%)	7,5 (4,1-13,2)	7,5 (5,4-14,9)	0,57
Ácido úrico (mg/dl)	4,9 (1,6)	4,9 (1,5)	0,83
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,4-1,4)	0,8 (0,4-1,8)	0,90
Colesterol total (mg/dl)	199 (39)	198 (50)	0,90
HDL-colesterol (mg/dl)	38 (20-90)	39 (15-91)	0,81
LDL-colesterol (mg/dl)	121 (35)	119 (42)	0,72
Triglicerídeos (mg/dl)	144 (44-917)	138 (34-1207)	0,90
Hipertrigliceridemia (>150 mg/dl)	33 (47%)	46 (47%)	0,97
Fosfatase alcalina elevada	5 (7%)	7 (7%)	0,98
Fosfatase alcalina (U/L)	92 (41)	90 (47)	0,86
ALT (x normal)	0,61 (0,23-1,92)	0,65 (0,28-6,52)	0,54
Média de ALT (U/L)	40 (16-124)	42 (18-220)	0,37
ALT elevada	8 (12%)	16 (16%)	0,39
AST (x normal)	0,65 (0,27-2,51)	0,58 (0,27-3,41)	0,79
Média de AST (U/L)	24 (10-93)	22 (10-114)	0,80
AST elevada	12 (17%)	14 (14%)	0,59
Índice AST/ALT	0,52 (0,30-2,53)	0,51 (0,29-3,12)	0,61
Gama-GT (x normal)	0,45 (0,15-3,6)	0,49 (0,15-21)	0,19
Média de Gama-GT(U/L)	36 (13-246)	43 (13-1772)	0,11
Gama-GT elevada	12 (17%)	15 (15%)	0,69
Plaquetas (x10 ⁹ /l)	255.328 (76.462)	247.418 (62.759)	0,46
Ferritina (µg/l)	161 (6-1803)	158 (8-1131)	0,49
Proteína C (mg/L)	3,2 (0,2-30,6)	3,8 (0,4-95,0)	0,12
Bilirrubina (mg/dl)	0,5 (0,2-1,6)	0,5 (0,2-1,4)	0,59
Protrombina (INR)	1,0 (0,8-1,2)	1 (0,8-1,2)	0,55
Albumina (g/dl)	4,0 (0,4)	4,0 (0,3)	0,88
Microalbuminúria (mg/24h)	11 (2-3505)	14 (2-2944)	0,34
Clearance de creatinina (ml/min/1,73m ²)	108 (41)	111 (34)	0,64
Presença de esteatose	66 (94%)	94 (96%)	0,62
Presença de cirrose	0 (0%)	5 (5%)	0,05

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

6.5 Análise descritiva dos pacientes submetidos a BH

Dentre os 98 pacientes em que a biópsia foi realizada, em dois não foi obtido fragmento satisfatório, em um a biópsia foi inconclusiva e três apresentavam outras patologias hepáticas que justificavam as anormalidades encontradas na ultrassonografia e/ou aminotransferases.

O grupo foi composto por 92 pacientes, 89 selecionados por presença de esteatose a US abdominal e três apenas por elevação de aminotransferases. As características sociodemográficas, as medidas antropométricas, os dados clínicos, laboratoriais e ultrassonográficos dos 92 pacientes são apresentados nas tabelas 16 a 20.

Tabela 16 Características sociodemográficas dos pacientes diabéticos submetidos a BH (n=92)

Variáveis sociodemográficas	Pacientes com BH (n=92)
Sexo feminino	59 (64%)
Cor branca	65 (71%)
Idade (anos)	55,6 (7,1)
Escolaridade (fundamental incompleto)	50 (54%)
Álcool (ex e atual)	25 (27%)
Tabagismo (ex e atual)	32 (35%)
Atividade física regular	26 (28%)

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 17 Medidas antropométricas dos pacientes diabéticos submetidos a BH (n=92)

Medidas Antropométricas	Pacientes com BH (n=92)
CA (cm)	105,2 (9,9)
CA (> 102cm e > 88cm)	76 (83%)
Relação cintura/quadril	1,00 (0,08)
IMC(kg/m ²)	31,4 (4,5)
Obesidade	54 (59%)

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 18 Condições clínicas associadas dos pacientes diabéticos submetidos a BH (n=92)

Condições clínicas associadas	Pacientes com BH (n=92)
Hipertensão arterial	81 (88%)
Tratamento da HAS	
Inibidores da ECA	65 (71%)
Antagonistas do receptor de angiotensina	4 (4%)
Dislipidemia	79 (86%)
Tratamento da dislipidemia	
Estatinas	66 (72%)
Fibratos	6 (6%)
AAS	79 (86%)

Tabela 19 Dados clínicos relacionados ao DM nos pacientes submetidos a BH (n=92)

Dados relacionados ao DM	Pacientes com BH (n=92)
Tempo de DM (anos)	7,8 (0,1-33,0)
Tratamento do diabetes	
Metformina	87 (95%)
Sulfonilureias	44 (48%)
Insulina	36 (39%)
Complicações microvasculares	
Retinopatia	6 (32%)
Nefropatia	25 (27%)
Microalbuminúria	24 (26%)
Neuropatia periférica	16 (17%)
Complicações macrovasculares	
Doença arterial coronariana	12 (13%)
Doença cerebrovascular	8 (9%)
Doença arterial periférica	12 (13%)

São apresentados nas tabelas 18 e 19 os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 20 Características laboratoriais e ultrassonográficas dos pacientes diabéticos submetidos a BH (n=92)

Variáveis laboratoriais e ultrassonográficas	Pacientes com BH (n=92)
Glicemia de jejum (MG/dl)	140 (61-373)
Hemoglobina glicada (%)	7,6 (1,6)
Ácido úrico (MG/dl)	4,9 (1,4)
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,4-1,7)
Colesterol total (mg/dl)	199 (51)
HDL-colesterol (mg/dl)	39 (11)
HDL (homem <40mg/dl ,mulher <50mg/dl)	71 (77%)
LDL-colesterol (mg/dl)	130 (37)
Triglicerídeos (mg/dl)	142 (34-1207)
Hipertrigliceridemia (>150 mg/dl)	44 (48%)
TSH (µUI/ml)	2,0 (0,1-31,2)
Fosfatase alcalina elevada	4 (4%)
Fosfatase alcalina (U/L)	87 (18-237)
ALT (x normal)	0,65 (0,28-2,18)
Média de ALT (U/L)	42 (18-114)
ALT elevada	15 (16%)
AST (x normal)	0,58 (0,27-3,41)
Média de AST (U/L)	22 (10-114)
AST elevada	13 (14%)
Índice AST/ALT	0,51 (0,29-3,12)
Gama-GT (x normal)	0,48 (0,15-6,20)
Média de Gama-GT (U/L)	41,5 (13-550)
Gama-GT elevada	13 (14%)
Plaquetas (x10 ⁹ /l)	249.402 (61.764)
Ferritina (µg/l)	155 (8-1131)
Proteína C (mg/L)	3,7 (0,4-95,0)
Bilirrubina (mg/dl)	0,5 (0,2-1,4)
Protrombina (INR)	1 (0,9-1,2)
Albumina (g/dl)	4,0 (0,4)
Microalbuminúria (mg/24h)	14 (1,61-2944)
Clearance de creatinina (ml/min/1,73m ²)	112 (34)
Presença de esteatose	89 (97%)
Presença de cirrose	2 (2%)

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

6.6 Tamanho do fragmento e efeitos adversos da BH

A mediana do tamanho do fragmento foi de 2 cm (1-4) e em 80 (87%) pacientes o fragmento da BH foi igual ou superior a 1,5 cm. Numa paciente com avaliação histológica prévia a amostra foi considerada insuficiente para a interpretação. Dois pacientes foram submetidos a duas tentativas de BH sem obtenção do fragmento. Dois pacientes apresentaram dor prolongada após a BH. Uma delas permaneceu por 24 horas no hospital, onde realizou nova US abdominal cujo laudo foi normal. Recebeu alta hospitalar com orientações e analgesia. A segunda paciente apresentou volumoso hematoma intra-hepático com queda do hematócrito. A paciente permaneceu internada em observação com acompanhamento radiológico do hematoma e não houve necessidade de transfusão de hemoderivados ou intervenção cirúrgica. Não houve outras complicações e nenhum óbito relacionado ao procedimento.

6.7 Avaliação histopatológica dos pacientes incluídos no estudo

A figura 2 apresenta a prevalência de DHGNA em seus diferentes estágios nos 92 pacientes. Apenas 5 (6%) apresentavam somente esteatose, enquanto 69 (75%) tinham esteato-hepatite e 3 (3%) cirrose. Quinze (16%) dos 92 pacientes não tinham esteatose; destes 6 (40%) e 12 (80%) apresentavam fibrose pelo melhor e pior escore, respectivamente. Desses 15 pacientes, 14 foram selecionados pelos critérios ultrassonográficos, porém não apresentavam esteatose a BH na avaliação de nenhum dos patologistas. Dos 89 pacientes selecionados por critérios ultrassonográficos de esteatose, 75 apresentavam esteatose a BH, conferindo um valor preditivo positivo a US abdominal de 84%.

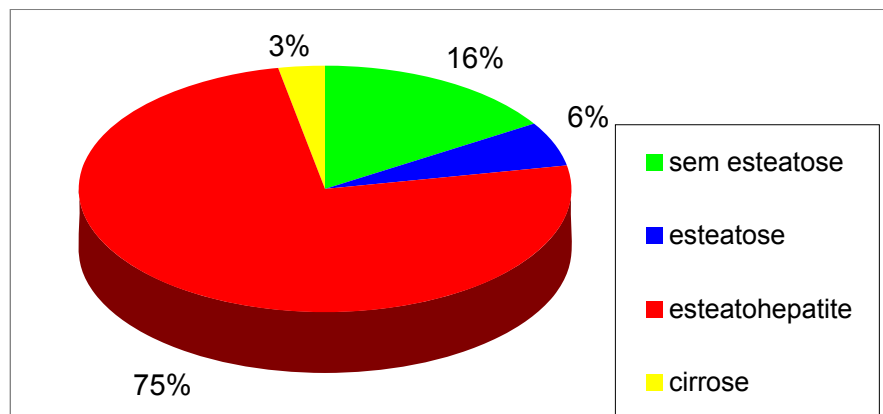


Figura 2 Avaliação histológica dos pacientes diabéticos submetidos à biópsia hepática (n=92)

Analizamos a reprodutibilidade dos parâmetros histológicos e a melhor concordância interexaminador foi para o diagnóstico de esteato-hepatite (kappa de 0,81) e esteatose (kappa de 0,76), seguida da fibrose categorizada em ausente até estágio 2 e estágios 3 e 4 (kappa de 0,69). (Quadro 2).

Quadro 2 Concordância interexaminador para as variáveis histológicas (n=92)

Variáveis histológicas	Kappa
Esteato-hepatite	0,81 (IC 95%: 0,67 a 0,96)
Esteatose (> 5%)	0,76 (kappa ponderado)
Balonização	0,45 (kappa ponderado)
Inflamação lobular	0,33 (kappa ponderado)
NAS (pontuação)	0,28 (kappa ponderado)
NAS ≥ 5	0,56 IC(95%) de 0,39 a 0,73
Inflamação portal (mais do que mínima)	0,56 IC(95%) de 0,39 a 0,73
Fibrose	0,46 (kappa ponderado)
Fibrose (maior ou igual ao estágio 2)	0,49 IC(95%) de 0,32 a 0,67
Fibrose (maior ou igual ao estágio 3)	0,69 IC(95%) de 0,45 a 0,93

A tabela 21 apresenta a avaliação de variáveis histológicas em que não houve concordância substancial interexaminador ($\kappa < 0,6$). São apresentados a frequência de cada uma das variáveis de acordo com cada examinador e de acordo com o melhor e pior escore.

Tabela 21 Variáveis histológicas em que não houve concordância substancial interexaminador (n=92)

Variáveis histológicas	Patologista 1	Patologista 2	Melhor escore	Pior Escore
Balonização	82 (89%)	86 (93%)	80 (87%)	88 (96%)
Inflamação lobular	73 (79%)	81 (88%)	70 (76%)	84 (91%)
NAS (pontuação)	3,9 (0-7)	4,2 (0-7)	4 (0-7)	5 (0-7)
NAS \geq 5	35 (38%)	45 (49%)	30 (33%)	50 (54%)
Inflamação portal	42 (46%)	34 (37%)	28 (30%)	48 (52%)
Estágios de fibrose				
0	18 (20%)	10 (11%)	22 (24%)	6 (6%)
1	39 (42%)	31 (34%)	44 (43%)	31 (34%)
2	22 (24%)	42 (46%)	23 (25%)	41 (45%)
3	10 (11%)	6 (6%)	5 (5%)	11 (12%)
4	3 (3%)	3 (3%)	3 (3%)	3 (3%)

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

6.8 Análise comparativa de acordo com a presença de esteato-hepatite

As tabelas de 22 a 27 apresentam as características sociodemográficas, as medidas antropométricas, os dados clínicos, as variáveis laboratoriais, ultrassonográficas e histológicas dos pacientes com ou sem esteato-hepatite à

biópsia hepática. Os pacientes com diagnóstico de esteato-hepatite usavam menos estatina. Em relação aos exames laboratoriais, os pacientes com esteato-hepatite apresentavam maiores valores de triglicérides séricos, de alanina aminotransferase e gama-glutamilttransferase. Na avaliação histológica, os pacientes com esteato-hepatite apresentaram maior pontuação do NAS, maior frequência do NAS maior ou igual a cinco e de esteatose maior que 5% na biópsia hepática.

Tabela 22 Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92)

Variáveis sociodemográficas	Pacientes sem EH (n=20)	Pacientes com EH (n=72)	p-valor
Sexo feminino	14 (70%)	45 (62%)	0,54
Cor branca	12 (60%)	53 (74%)	0,46
Idade (anos)	55,1 (6,4)	54,5 (7,4)	0,72
Álcool (ex e atual)	3 (15%)	22 (31%)	0,17
Tabagismo (ex e atual)	8 (40%)	27 (37%)	0,84
Atividade física regular	5 (25%)	21 (29%)	0,71

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 23 Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92)

Medidas Antropométricas	Pacientes sem EH (n=20)	Pacientes com EH (n=72)	p-valor
CA (cm)	103,1 (12,3)	105,8 (9,2)	0,27
CA (> 102cm e > 88cm)	16 (80%)	60 (83%)	0,74
Relação cintura/quadril	0,99 (0,11)	1,01 (0,07)	0,54
IMC (kg/m ²)	31,2 (5,1)	31,4 (4,4)	0,90
Obesidade	13 (65%)	41 (57%)	0,52

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 24 Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92)

Condições clínicas associadas	Pacientes sem EH (n=20)	Pacientes com EH (n=72)	p-valor
Hipertensão arterial	17 (85%)	64 (89%)	0,70
Tratamento da HAS			
Inibidores da ECA	12 (60%)	53 (74%)	0,24
Antagonistas do receptor de angiotensina	2 (10%)	2 (2.8%)	0,20
Dislipidemia	18 (90%)	61 (85%)	0,73
Tratamento da dislipidemia			
Estatinas	18 (90%)	48 (67%)	0,04
Fibratos	0 (0%)	6 (8%)	0,33
AAS	17 (89%)	62 (89%)	1,0

Tabela 25 Análise comparativa dos dados relacionados ao DM de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92)

Dados relacionados ao DM	Pacientes sem EH (n=20)	Pacientes com EH (n=72)	p-valor
Tempo de DM (anos)	5,5 (0,1-30,0)	5,0 (0,1-33,0)	0,61
Tratamento do DM			
Metformina	19 (95%)	68 (94%)	1,0
Sulfonilureias	9 (41%)	35 (50%)	0,46
Insulina	9 (45%)	27 (37%)	0,54
Complicações microvasculares			
Retinopatia	6 (32%)	12 (17%)	0,20
Nefropatia	34 (34%)	27 (29%)	0,46
Microalbuminúria	3 (16%)	21 (30%)	0,22
Neuropatia	6 (30%)	10 (14%)	0,11
Complicações macrovasculares			
Doença arterial coronariana	3 (15%)	9 (12%)	0,72
Doença cerebrovascular	1 (5%)	7 (10%)	0,69
Doença arterial periférica	4 (20 %)	8 (11%)	0,29

São apresentados nas tabelas 24 e 25 os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 26 Análise comparativa das variáveis laboratoriais e ultrassonográficas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92)

Variáveis laboratoriais e ultrassonográficas	Pacientes sem EH (n=20)	Pacientes com EH (n=72)	p-valor
Glicemia de jejum (mg/dl)	139 (61-350)	140 (75-373)	0,72
Hemoglobina glicada (%)	7,9 (1,7)	7,5 (1,5)	0,34
Ácido úrico (mg/dl)	4,4 (1,5)	5,0 (1,4)	0,10
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,4-1,2)	0,8 (0,4-1,7)	0,71
Colesterol total (mg/dl)	202 (48)	198 (52)	0,71
HDL-colesterol (mg/dl)	48 (15)	39 (9)	0,01
HDL baixo	12 (60%)	59 (82%)	0,07
LDL-colesterol (mg/dl)	130 (37)	117 (44)	0,23
Triglicerídeos (mg/dl)	104 (40-740)	171 (34-1207)	0,02
Hipertrigliceridemia (>150 mg/dl)	4 (20%)	40 (56%)	0,04
Fosfatase alcalina elevada	2 (10%)	2 (3%)	0,18
Fosfatase alcalina (U/L)	96 (49-144)	77 (18-237)	0,12
ALT (x normal)	0,55 (0,43-0,95)	0,7 (0,28-2,18)	0,02
Média de ALT (U/L)	35 (26-70)	43 (18-114)	0,008
ALT elevada	1 (5%)	14 (19%)	0,18
AST (x normal)	0,55 (0,43-0,95)	0,62 (0,27-3,41)	0,39
Média de AST (U/L)	20 (14-45)	23 (10-114)	0,30
AST elevada	2 (10%)	11 (15%)	0,73
AST/ALT	0,54 (0,38-0,86)	0,50 (0,29-3,12)	0,08
Gama-GT (x normal)	0,35 (0,15-1,24)	0,50 (0,20-6,20)	0,05
Média de Gama-GT (U/L)	28 (13-110)	44 (17-550)	0,02
Gama-GT elevada	2 (10%)	10 (14%)	1,0
Plaquetas (x10 ⁹ /l)	262.600 (50.874)	245.736 (64.297)	0,28
Ferritina (µg/l)	146 (25-860)	161 (8-1131)	0,93
Proteína C (mg/L)	3,6 (0,5-95,0)	4,2 (0,4-41,1)	0,85
Bilirrubina (mg/dl)	0,5 (0,2-1,1)	0,5 (0,2-1,4)	0,65
Protrombina (INR)	1,0 (0,9-1,1)	1,0 (0,9-1,2)	0,04
Albumina (g/dl)	3,9 (0,3)	4,1 (0,4)	0,02
Microalbuminúria (mg/24h)	18 (4-342)	14 (2-2944)	0,38
Clearance de creatinina (ml/min/1,73m ²)	109 (42)	114 (32)	0,56
Presença de esteatose	19 (95%)	70 (99%)	0,40
Presença de cirrose	0 (0%)	2 (3%)	1,0

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 27 Análise comparativa das variáveis histológicas de acordo com a presença de esteato-hepatite (n=92)

Variáveis histológicas	Pacientes sem EH (n=20)	Pacientes com EH (n=72)	p-valor
NAS (pontuação)	2 (0-4)	5 (2-7)	<0,001
NAS ≥ 5	0 (0%)	45 (62%)	<0,001
Presença de esteatose (>5%)	5 (25%)	72 (100%)	<0,001
Inflamação portal (mais do que mínima)	4 (20%)	30 (42%)	0,08

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

6.9 Análise comparativa de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada

A análise comparativa das características sociodemográficas, dados clínicos, medidas antropométricas, variáveis laboratoriais, ultrassonográficas e histológicas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada foi realizada considerando-se o melhor e o pior escore (Tabelas 28 a 39). As variáveis que se associaram com a presença de fibrose moderada e acentuada nos dois escores de fibrose foram os níveis de Gama-GT e a presença de maior pontuação do NAS e inflamação portal na BH.

Tabela 28 Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)

Variáveis sociodemográficas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=61)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=31)	p-valor
Sexo feminino	39 (64%)	20 (64%)	0,96
Cor branca	41 (67%)	24 (77%)	0,59
Idade (anos)	54,5 (7,5)	54,7 (6,4)	0,91
Álcool (ex e atual)	15 (25%)	10 (32%)	0,43
Tabagismo (ex e atual)	23 (38%)	12 (39%)	0,92
Atividade física regular	20 (33%)	6 (19%)	0,18

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 29 Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)

Medidas Antropométricas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=61)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=31)	p-valor
CA (cm)	104,5 (9,0)	106,8 (11,6)	0,29
CA (> 102cm e > 88cm)	52 (85%)	24 (77%)	0,35
Relação cintura/quadril	0,99 (0,08)	1,02 (0,07)	0,15
IMC(kg/m ²)	31,28 (4,52)	31,50 (4,65)	0,82
Obesidade	36 (59%)	18 (58%)	0,93

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 30 Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)

Condições clínicas associadas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=61)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=31)	p-valor
Hipertensão arterial	53 (87%)	28 (90%)	0,74
Tratamento da HAS			
Inibidores da ECA	44 (72%)	21 (68%)	0,66
Antagonistas do receptor de angiotensina	3 (5%)	1 (3%)	1,0
Dislipidemia	54 (88%)	25 (81%)	0,35
Tratamento da dislipidemia			
Estatinas	47 (77%)	19 (61%)	0,11
Fibratos	1 (2%)	5 (16%)	0,02
AAS	56 (93%)	23 (79%)	0,07

Tabela 31 Análise comparativa dos dados relacionados ao DM de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)

Dados relacionados ao DM	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=61)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=31)	p-valor
Tempo de DM (anos)	5,0 (0,1-33,0)	5,0 (0,1-30,0)	0,60
Tratamento do DM			
Metformina	59 (97%)	28 (90%)	0,20
Sulfonilureias	32 (52%)	12 (39%)	0,21
Insulina	21 (34%)	15 (48%)	0,19
Complicações microvasculares			
Retinopatia	12 (20%)	6 (20%)	1,0
Nefropatia	18 (30%)	7 (23%)	0,50
Microalbuminúria	17 (28%)	7 (24%)	0,68
Neuropatia periférica	9 (15%)	7 (23%)	0,35
Complicações macrovasculares			
Doença arterial coronariana	8 (13%)	4 (13%)	1,0
Doença cerebrovascular	4 (7%)	4 (13%)	0,43
Doença arterial periférica	6 (10%)	6 (19%)	0,21

São apresentados nas tabelas 30 e 31 os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 32 Análise comparativa das variáveis laboratoriais de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)

Variáveis laboratoriais e ultrassonográficas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=61)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=31)	p-valor
Glicemia de jejum(mg/dl)	155 (62)	168 (70)	0,35
hemoglobina glicada (%)	7,6 (1,4)	7,6 (1,8)	0,99
Ácido úrico (mg/dl)	5,0 (1,5)	4,6 (1,3)	0,29
Creatinina (MG/dl)	0,8 (0,5-1,2)	0,7 (0,4-1,7)	0,42
Colesterol total (mg/dl)	200 (48)	196 (57)	0,75
HDL-colesterol (mg/dl)	42 (11)	39 (10)	0,23
LDL-colesterol (mg/dl)	124 (41)	111 (46)	0,13
Triglicerídeos (mg/dl)	138 (40-1207)	150 (34-920)	0,96
Hipertrigliceridemia (>150 mg/dl)	28 (47%)	16 (52%)	0,65
Fosfatase alcalina elevada	2 (3%)	2 (6%)	0,51
Fosfatase alcalina (U/L)	78 (18-225)	81 (39-237)	0,66
ALT(x normal)	0,65 (0,31-1,65)	0,66 (0,28-2,18)	0,72
Média de ALT (U/L)	41 (21-90)	42 (18-114)	0,43
ALT elevada	7 (11%)	8 (26%)	0,08
AST (x normal)	0,57 (0,32-2,43)	0,59 (0,27-3,41)	0,26
Média de AST (U/L)	21 (14-56)	25 (10-114)	0,12
AST elevada	6 (10%)	7 (23%)	0,12
Índice AST/ALT	0,50 (0,29-3,12)	0,52 (0,35-2,97)	0,41
Gama-GT (x normal)	0,46 (0,19-2,40)	0,66 (0,50-6,20)	0,02
Média de Gama-GT (U/L)	38 (16-110)	56 (13-550)	<0,001
Gama-GT elevada	4 (7%)	9 (29%)	0,008
Plaquetas (x10 ⁹ /l)	255.311 (55.635)	237.774 (71.904)	0,20
Ferritina (µg/l)	141 (8-1131)	177 (8-739)	0,28
Proteína C (mg/L)	3,6 (0,4-95,0)	4,8 (0,4-68,9)	0,40
Bilirrubina (mg/dl)	0,4 (0,2-1,2)	0,6 (0,2-1,4)	0,10
Protrombina (INR)	1,0 (0,9-1,2)	1,0 (0,9-1,1)	0,76
Albumina (g/dl)	4,1 (0,4)	4,0 (0,3)	0,37
Microalbuminúria (mg24h)	16 (2-1022)	13 (2-2944)	0,48
Clearance de creatinina (ml/min/1,73m ²)	110 (33)	117 (35)	0,37

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 33 Análise comparativa das variáveis histológicas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (melhor escore de fibrose) (n=92)

Variáveis histológicas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=61)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=31)	p-valor
NAS 1 (pontuação)	3,5 (1,7)	4,6 (1,7)	0,04
NAS 2 (pontuação)	3,9 (1,5)	4,6 (1,3)	0,03
Presença de esteatose 1 (>5%)	48 (79%)	29 (93%)	0,07
Presença de esteatose 2 (>5%)	48 (79%)	29 (93%)	0,07
Inflamação portal 1(mais do que mínima)	18 (29%)	24 (77%)	<0,001
Inflamação portal 2(mais do que mínima)	14 (23%)	20 (64%)	<0,001
Presença de esteato-hepatite 1	43 (70%)	27 (87%)	0,08
Presença de esteato-hepatite 2	44 (72%)	28 (90%)	0,05

1: análise do patologista 1. 2: análise do patologista 2

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 34 Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92)

Variáveis sociodemográficas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=37)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=55)	p-valor
Sexo feminino	27 (73%)	32 (58%)	0,15
Cor branca	22 (59%)	43 (78%)	0,15
Idade (anos)	54,2 (7,6)	55,2 (6,3)	0,53
Álcool (ex e atual)	7 (19%)	18 (33%)	0,14
Tabagismo (ex e atual)	12 (32%)	23 (42%)	0,36
Atividade física regular	11 (30%)	15 (27%)	0,80

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 35 Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92)

Medidas antropométricas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=37)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=55)	p-valor
CA (cm)	104,3 (9,0)	106,7 (11,2)	0,26
CA (> 102cm e > 88cm)	30 (81%)	46 (84%)	0,75
Relação cintura/quadril	1,00 (0,08)	1,02 (0,08)	0,27
IMC (kg/m ²)	31,3 (4,5)	31,4 (4,7)	0,92
Obesidade	19 (51%)	35 (63%)	0,24

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 36 Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92)

Condições clínicas associadas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=37)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=55)	p-valor
Hipertensão arterial	32 (86%)	49 (89%)	0,75
Tratamento da HAS			
Inibidores da ECA	24 (65%)	41 (74%)	0,32
Antagonistas do receptor de angiotensina	2 (5%)	2 (4%)	0,68
Dislipidemia	34 (92%)	45 (82%)	0,17
Tratamento da dislipidemia			
Estatinas	29 (78%)	37 (67%)	0,25
Fibratos	1 (3%)	5 (9%)	0,40
AAS	34 (94%)	45 (85%)	0,19

Tabela 37 Análise comparativa dos dados relacionados ao DM de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92)

Dados relacionados ao DM	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=37)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=55)	p-valor
Tempo de DM (anos)	5,0 (0,1-33,0)	6,0 (0,1-30,0)	0,78
Tratamento do DM			
Metformina	36 (97%)	51 (93%)	0,64
Sulfonilureias	20 (54%)	24 (44%)	0,33
Insulina	14 (38%)	22 (40%)	0,83
Complicações microvasculares			
Retinopatia	8 (22%)	10 (18%)	0,67
Nefropatia	10 (28%)	15 (28%)	1,0
Microalbuminúria	9 (25%)	15 (28%)	0,73
Neuropatia periférica	7 (19%)	9 (16%)	0,75
Complicações macrovasculares			
Doença arterial coronariana	3 (8%)	9 (16%)	0,35
Doença cerebrovascular	2 (5.4%)	6 (11%)	0,47
Doença arterial periférica	4 (11%)	8 (14%)	0,76

São apresentados nas tabelas 36 e 37 os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 38 Análise comparativa das variáveis laboratoriais de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92)

Variáveis laboratoriais	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=37)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=55)	p-valor
Glicemia de jejum (mg/dl)	158 (72)	161 (60)	0,83
Hemoglobina glicada (%)	7,5 (1,5)	7,7 (1,7)	0,55
Ácido úrico (mg/dl)	5,0 (1,5)	4,6 (1,3)	0,13
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,5-1,0)	0,8 (0,4-1,7)	0,43
Colesterol total (mg/dl)	201 (49)	195 (54)	0,61
HDL-colesterol (mg/dl)	42 (12)	39 (10)	0,25
LDL-colesterol (mg/dl)	125 (42)	112 (43)	0,14
Triglicerídeos (mg/dl)	142 (40-1207)	140 (34-920)	0,99
Hipertrigliceridemia(>150 mg/dl)	18 (47%)	26 (48%)	0,96
Fosfatase alcalina elevada	2 (6%)	2 (4%)	0,65
Fosfatase alcalina (U/L)	79 (18-225)	80 (34-237)	0,37
ALT (x normal)	0,63 (0,31-1,65)	0,66 (0,28-2,18)	0,42
Média de ALT (U/L)	39 (26-90)	43 (18-114)	0,09
ALT elevada	5 (13%)	10 (18%)	0,55
AST (x normal)	0,57 (0,32-2,43)	0,59 (0,27-3,41)	0,21
Média de AST (U/L)	21 (14-56)	24 (10-114)	0,07
AST elevada	3 (8%)	10 (18%)	0,17
Índice AST/ALT	0,50 (0,29-1,2)	0,52 (0,34-3,12)	0,45
Gama-GT (x normal)	0,46 (0,19-2,40)	0,56 (0,15-6,20)	0,03
Média de Gama-GT (U/L)	38 (16-110)	47 (13-550)	0,013
Gama-GT elevada	3 (8%)	10 (18%)	0,23
Plaquetas ($\times 10^9$ /l)	257.807 (74.143)	235.714 (11.634)	0,10
Ferritina ($\mu\text{g/l}$)	109 (8-860)	167 (8-1131)	0,16
Proteína C (mg/L)	3,6 (0,4-95,0)	3,9 (0,4-68,9)	0,81
Bilirrubina (mg/dl)	0,4 (0,2-1,2)	0,5 (0,2-1,4)	0,48
Protrombina (INR)	1,0 (0,9-1,2)	1,0 (0,9-1,1)	0,75
Albumina (g/dl)	4,0 (0,4)	4,0 (0,4)	0,67
Microalbuminúria (mg/24h)	14 (4-481)	14 (2-2944)	0,51
Clearance de creatinina (ml/min/1,73m ²)	110 (34)	116 (34)	0,40

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 39 Análise comparativa das variáveis histopatológicas de acordo com a presença de fibrose moderada/acentuada (pior escore de fibrose) (n=92)

Variáveis histológicas	Pacientes sem fibrose moderada/acentuada (n=37)	Pacientes com fibrose moderada/acentuada (n=55)	p-valor
NAS 1 (pontuação)	3,5 (1,8)	4,5 (1,6)	0,01
NAS 2 (pontuação)	4,0 (1,5)	4,5 (1,4)	0,03
Presença de esteatose 1 e 2 (>5%)	27 (73%)	50 (91%)	0,02
Inflamação portal 1 (mais do que mínima)	8 (22%)	34 (62%)	<0,001
Inflamação portal 2 (mais do que mínima)	4 (11%)	30 (54%)	<0,001
Presença de esteato-hepatite 1	23 (62%)	47 (85%)	0,01
Presença de esteato-hepatite 2	24 (65%)	48 (87%)	0,01

1: análise do patologista 1. 2: análise do patologista 2

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

6.10 Análise comparativa de acordo com a presença de fibrose avançada pela US e BH

Para a análise de fibrose avançada incluímos, além dos pacientes com estágio 3 e 4 pela BH, os pacientes com sinais de hepatopatia crônica a US abdominal. Foram excluídos dois pacientes que apresentavam à avaliação histopatológica outras patologias que justificavam a presença de sinais de hepatopatia crônica a US abdominal. Como a concordância para fibrose maior ou igual ao estágio 3 pela BH foi considerada substancial ($k=0.69$) (quadro 2), utilizamos para a análise os dados de apenas um dos patologistas.

A análise comparativa das características sociodemográficas, dados clínicos, medidas antropométricas, variáveis laboratoriais, ultrassonográficas e histológicas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e US.(Tabelas 40 a 44)

Pacientes com fibrose avançada apresentavam menor frequência de CA elevada e menor uso de metformina e AAS. Em relação às variáveis laboratoriais os pacientes com fibrose avançada tinham menores níveis de TSH e albumina sérica e maiores níveis de ferritina, ALT, AST e Gama-GT do que os pacientes sem fibrose avançada. Maior proporção dos pacientes com fibrose apresentaram valores anormais das enzimas hepáticas.

Tabela 40 Análise comparativa das variáveis sociodemográficas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100)

Variáveis sociodemográficas	Pacientes sem fibrose avançada (n=79)	Pacientes com fibrose Avançada (n=21)	p-valor
Sexo feminino	51 (65%)	11 (52%)	0,31
Cor branca	55 (70%)	15 (71%)	0,97
Idade (anos)	54,6 (7,3)	56,5 (6,1)	0,28
Álcool (ex e atual)	20 (25%)	10 (48%)	0,05
Tabagismo (ex e atual)	31 (39%)	7 (33%)	0,62
Atividade física regular	22 (28%)	4 (19%)	0,41

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal.

Tabela 41 Análise comparativa das medidas antropométricas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100)

Medidas antropométricas	Pacientes sem fibrose avançada (n=79)	Pacientes com fibrose avançada (n=21)	p-valor
CA (cm)	105,2 (9,6)	102,6 (11,8)	0,29
CA (> 102cm e > 88cm)	66 (84%)	12 (57%)	0,013
Relação cintura/quadril	1 (0,82-1,32)	1 (0,91-1,11)	0,27
IMC (kg/m ²)	31,6 (4,4)	29,8 (4,5)	0,11
Obesidade	48 (61%)	10 (48%)	0,28

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 42 Análise comparativa das condições clínicas associadas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100)

Condições clínicas associadas	Pacientes sem fibrose avançada (n=79)	Pacientes com fibrose avançada (n=21)	p-valor
Hipertensão arterial	70 (89%)	16 (76%)	0,16
Tratamento da HAS			
Inibidores da ECA	56 (71%)	15 (71%)	0,96
Antagonistas do receptor de angiotensina	4 (5%)	0 (0%)	0,58
Dislipidemia	69 (87%)	16 (76%)	0,30
Tratamento da dislipidemia			
Estatinas	58 (73%)	13 (62%)	0,30
Fibratos	4 (5%)	2 (9%)	0,44
AAS	72 (93%)	14 (70%)	0,009

Tabela 43 Análise comparativa dos dados relacionados ao DM de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100)

Dados relacionados ao DM	Pacientes sem fibrose avançada (n=79)	Pacientes com fibrose Avançada (n=21)	p-valor
Tempo de DM (anos)	5,0 (0,1-33,0)	5,0 (0,1-30,0)	0,55
Tratamento do DM			
Metformina	76 (96%)	16 (76%)	0,01
Sulfonilureias	40 (51%)	8 (38%)	0,31
Insulina	30 (38%)	10 (48%)	0,42
Complicações microvasculares			
Retinopatia	17 (22%)	4 (21%)	1,0
Nefropatia	23 (30%)	7 (35%)	0,63
Microalbuminúria	22 (29%)	7 (35%)	0,58
Neuropatia periférica	13 (16%)	6 (29%)	0,22
Complicações macrovasculares			
Doença arterial coronariana	11 (14%)	3 (14%)	1,0
Doença cerebrovascular	7 (9%)	1 (5%)	1,0
Doença arterial periférica	9 (11%)	5 (24%)	0,16

São apresentados nas tabelas 42 e 43 os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

Tabela 44 Análise comparativa das variáveis laboratoriais e ultrassonográficas de acordo com a presença de fibrose avançada pela BH e/ou US (n=100)

Variáveis laboratoriais e ultrassonográficas	Pacientes sem fibrose avançada (n=79)	Pacientes com fibrose avançada (n=21)	p-valor
Glicemia de jejum (mg/dl)	156 (61)	188 (76)	0,04
Hemoglobina glicada (%)	7,6 (1,5)	7,6 (1,6)	0,87
Ácido úrico (mg/dl)	5,0 (1,4)	4,5 (1,7)	0,19
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,4-1,7)	0,7 (0,4-1,8)	0,95
Colesterol total (mg/dl)	198 (49)	200 (53)	0,88
HDL-colesterol (mg/dl)	41 (11)	40 (11)	0,77
LDL-colesterol (mg/dl)	121 (43)	115 (40)	0,56
Triglicerídeos (mg/dl)	138 (34-1207)	150 (37-748)	0,80
TSH (μU/mL)	2,3 (0,1-31,2)	1,6 (0,9-7,4)	0,04
Hipertrigliceridemia (>150mg/dl)	37 (47%)	11 (52%)	0,69
Fosfatase alcalina elevada	2 (3%)	4 (20%)	0,004
Fosfatase alcalina (U/L)	78 (18-225)	88 (39-237)	0,05
Média de ALT(U/L)	41 (18-90)	45 (27-114)	0,03
ALT (x normal)	0,63 (0,28-1,65)	0,75 (0,35-2,18)	0,17
ALT elevada	8 (10%)	7 (33%)	0,015
Média de AST (U/L)	21 (10-56)	30 (15-114)	<0,001
AST (x normal)	0,54 (0,27-2,57)	0,86 (0,27-3,41)	0,002
AST elevada	7 (9%)	7 (33%)	0,009
Índice AST/ALT	0,50 (0,29-3,12)	0,66 (0,30-1,57)	0,01
Média de Gama-GT (U/L)	39 (13-110)	89 (33-550)	<0,001
Gama-GT (x normal)	0,46 (0,15-2,40)	0,98 (0,39-6,20)	<0,001
Gama-GT elevada	5 (6%)	10 (48%)	<0,001
Plaquetas (x10 ⁹ /l)	253.860 (57.207)	216.333 (86.824)	0,07
Ferritina (μg/l)	138 (8-1131)	251 (44-555)	0,03
Proteína C(mg/L)	3,7 (0,4-95,0)	4,8 (0,38-41,1)	0,66
Bilirrubina (mg/dl)	0,4 (0,2-1,3)	0,6 (0,2-2,7)	0,07
Protrombina(INR)	1,0 (0,9-1,2)	1 (0,9-1,7)	0,30
Albumina (g/dl)	4,0 (0,4)	3,8 (0,4)	0,005
Microalbuminúria (24-horas)	15 (2-2944)	13 (2-1740)	0,83
Clearance de creatinina (ml/min/1,73m ²)	112 (33)	108 (41)	0,64

São apresentados os números absolutos (proporções) para variáveis categóricas, médias (desvios padrões) para variáveis contínuas com distribuição normal e medianas (intervalos interquartis) para variáveis contínuas com distribuição assimétrica.

6.11 Variáveis associadas de forma independente com a presença de esteato-hepatite e fibrose

Níveis de triglicérides, de HDL-colesterol e de alanina aminotransferase foram as variáveis associadas de forma independente com a presença de esteato-hepatite à biópsia hepática. Nenhuma variável relacionada ao DM2 associou-se de forma independente com a presença de esteato-hepatite.

Apenas os níveis de gama-glutamilttransferase relacionaram-se independentemente com a presença de fibrose moderada e acentuada considerando tanto a pior como a melhor possibilidade diagnóstica dos dois patologistas. Nenhuma outra variável clínica, antropométrica, laboratorial ou ultrassonográfica correlacionou-se com a presença de maior estágio de fibrose hepática.

Os resultados da regressão logística multivariada para a associação entre as variáveis e a presença de esteato-hepatite e fibrose moderada/acentuada são apresentados nas tabelas 45 e 46.

Tabela 45 Regressão logística multivariada para variáveis associadas de forma independente com a presença de esteato-hepatite na BH (variável dependente)

Variáveis	Razão de chances	Intervalo de confiança de 95%	p-valor
Modelo 1			
HDL-colesterol (1mg/dL)	0,94	0,89 – 0,99	0,029
Média de ALT (1 U/L)	1,05	1,00 – 1,10	0,052
Modelo 2			
HDL-colesterol (1mg/dL)	0,95	0,90 – 1,01	0,079
Média de ALT (1 U/L)	1,05	1,00 – 1,10	0,044
Hipertrigliceridemia (150mg/dL)	3,94	1,11 – 14,04	0,034

Outras variáveis candidatas: HDL-colesterol (categorizada), triglicerídeos (contínua), ALT (categorizada), ALT_xnormal (contínua), média de Gama-GT (contínua), proteína C ultrasensível (contínua), ácido úrico (contínua), presença de neuropatia, uso de estatinas e álcool (ex e atual).

Tabela 46 Regressão logística multivariada para variáveis associadas de forma independente com a presença de fibrose moderada/acentuada na BH (variável dependente)

Variáveis	Razão de chances	Intervalo de confiança de 95%	p-valor
Modelo 1			
Fibrose (melhor escore)			
Média de Gama-GT (1 U/L)	1,04	1,01 - 1,06	0,002
Modelo 2			
Fibrose (pior escore)			
Idade (1 ano)	1,08	1,01 - 1,16	0,022
Sexo feminino	0,39	0,15 - 1,05	0,064
Média de Gama-GT (1 U/L)	1,03	1,01 - 1,05	0,016

Outras variáveis candidatas: Melhor escore: ALT (categorizada), Gama-GT (categorizada), média de AST (contínua), AST (categorizada), LDL-colesterol (contínua), relação cintura-quadril (contínua), bilirrubina total (contínua), ácido úrico (contínua), atividade física, uso de estatinas, de AAS e de insulina. Pior escore: Média de AST (contínua), AST (categorizada), média de ALT (contínua), Gama-GT_xnormal (contínua), LDL-colesterol (contínua), plaqueta (contínua), ferritina (contínua), ácido úrico (contínua), presença de dislipidemia, uso de AAS e álcool (ex e atual).

7 DISCUSSÃO

Há um número elevado de estudos na literatura sobre a importância do DM na epidemiologia da DHGNA, mas poucos avaliaram a prevalência da DHGNA em pacientes com DM2. Embora os estudos iniciais tenham demonstrado uma prevalência elevada de DHGNA em pacientes diabéticos, eles foram realizados em populações selecionadas – como obesos mórbidos candidatos à cirurgia bariátrica – ou utilizaram apenas os níveis séricos de aminotransferases como critério diagnóstico (Erbey *et al.*, 2000; Lima *et al.*, 2005; Machado *et al.*, 2006).

Nesse contexto, o presente trabalho é pioneiro no que se refere ao estudo histopatológico da DHGNA em pacientes com DM2. Os principais achados deste estudo foram prevalência elevada de DHGNA e suas formas mais graves de apresentação histológica, como a esteato-hepatite e a presença de fibrose moderada e acentuada, em pacientes com DM2. Além disso, o estudo não demonstrou a associação dos parâmetros de controle glicêmico ou de complicações micro e macrovasculares com a presença de esteato-hepatite e fibrose significativa a BH.

Em nosso primeiro estudo havíamos encontrado uma prevalência de DHGNA pela US abdominal de 69,4% (Leite *et al.*, 2009). Os resultados da segunda análise com maior número de pacientes corroboraram nossos achados anteriores. A prevalência de DHGNA foi semelhante (73,9%), com a mesma distribuição entre os pacientes dos diferentes graus de esteatose e de achados ultrassonográficos sugestivos de hepatopatia crônica. A prevalência encontrada foi bem superior à da população geral, estimada em até 23%, dependendo da metodologia empregada

para o diagnóstico de DHGNA (Clark *et al.*, 2002; Ruhl e Everhart, 2003).

Outros trabalhos avaliaram a prevalência de DHGNA em pacientes com DM. Num estudo realizado na Índia, Gupte e cols. encontraram uma prevalência de 49% de achados ultrassonográficos de esteatose em 100 pacientes com DM2 (Gupte *et al.*, 2004). Também num outro estudo realizado na Índia, os autores avaliaram uma coorte de 204 pacientes com DM2 entre 18 e 70 anos, e a prevalência de esteatose pela US foi de 62,2% (Prashanth *et al.*, 2009).

No maior estudo de prevalência de DHGNA, Targher e cols. avaliaram 2.839 pacientes com DM2, e a prevalência de esteatose a US foi de 69,5%, semelhante à do nosso estudo. A população avaliada neste estudo incluiu maior proporção de pacientes do sexo masculino, com faixa etária entre 40 e 86 anos. Houve também diferenças na metodologia adotada, já que os autores não excluíram o uso de álcool, de medicamentos e de vírus antes da realização da US abdominal. A avaliação radiológica foi repetida em 150 (5%) pacientes e por um mesmo examinador com coeficiente de variação intraobservador de 3% (Targher *et al.*, 2007). Também avaliamos a reprodutibilidade da US abdominal, mas repetindo o exame com um segundo examinador em 14% dos pacientes. A concordância interexaminador para a presença e a quantificação de esteatose no nosso estudo foi boa (k de 0,82 e 0,70, respectivamente). Em contrapartida, outros pesquisadores encontraram variabilidade substancial intra e interobservador na avaliação ultrassonográfica da presença e da graduação da esteatose, especialmente se o grau de esteatose a BH fosse inferior a 30% (Saadeh *et al.*, 2002; Strauss *et al.*, 2007).

Tanto no primeiro estudo como na análise atual com maior número de casos, demonstramos associação da presença de esteatose a US com todas as medidas antropométricas: medida da CA, relação cintura-quadril e IMC. Os

pacientes com qualquer grau de esteatose apresentaram CA e IMC significativamente maiores em comparação àqueles sem esteatose a US. É estabelecido que obesidade e adiposidade central são fatores preditivos de DHGNA em pacientes sem diagnóstico de DM (Andersen e Gluud, 1984; Braillon *et al.*, 1985; Klain *et al.*, 1989; Silverman *et al.*, 1990; Kral *et al.*, 1993; Hsieh e Yoshinaga, 1995; Luyckx *et al.*, 1998; Marceau *et al.*, 1999; Garcia-Monzon *et al.*, 2000; Dixon *et al.*, 2001; Guimarães, 2003).

Num estudo recente tipo caso-controle, os autores demonstraram que para um mesmo IMC ou medida da CA, pacientes com DM2 tinham muito mais gordura intra-hepática avaliada por ressonância magnética espectroscópica do que os controles. No entanto, é importante ressaltar que a CA sofre influência do acúmulo do tecido adiposo subcutâneo e, na verdade, não é a medida mais fidedigna do tecido adiposo visceral. A quantificação do percentual de gordura intra-abdominal foi feita por ressonância magnética espectroscópica. Houve também correlação do IMC, da CA e do percentual de gordura intra-abdominal com o percentual de gordura intra-hepática tanto nos diabéticos como nos controles (Kotronen *et al.*, 2008). Esses resultados demonstram que obesidade e adiposidade central são também preditivos da presença de esteatose hepática em pacientes com DM2.

Houve associação da presença de esteatose a US com os níveis de triglicerídeos e de HDL-colesterol. A síntese e exportação de VLDL é um dos mecanismos pelo qual o fígado se defende do afluxo dos ácidos graxos circulantes. Níveis elevados de VLDL aumentam os níveis de triglicerídeos, que, por sua vez, reduzem os níveis de HDL-colesterol. (ADIELS, 2006) Através desses mecanismos é possível compreender por que a esteatose hepática está associada com a presença de hipertrigliceridemia e menores níveis de HDL-colesterol em pacientes com DM2.

Também encontramos associação da presença de esteatose a US com maiores níveis de aminotransferases, Gama-GT e proteína C. A proteína C ultrasensível é uma proteína de fase aguda e eleva-se em pacientes com inflamações crônicas e com adiposidade central. Os resultados na literatura foram inconsistentes em relação à associação de níveis elevados de proteína C e DHGNA (Hui et al., 2004; Yoneda et al., 2007b).

Targher e cols. encontraram associação de esteatose a US com sexo masculino, idade elevada, presença de síndrome metabólica, maiores índices de massa corporal, níveis de triglicérides e de aminotransferases. Os autores evidenciaram maior proporção de ALT elevada nos pacientes com DM2 com esteatose a US abdominal (Targher *et al.*, 2007).

Combinando os dados da literatura com os nossos resultados, podemos concluir que a prevalência de esteatose à ultrassonografia abdominal é elevada em pacientes com DM2. Vários estudos correlacionaram os achados ultrassonográficos sugestivos de esteatose com a histopatologia com sensibilidade de 60% a 100% e especificidade de 82% a 94% (Foster *et al.*, 1980a; Yajima *et al.*, 1983; Sanford *et al.*, 1985; Needleman *et al.*, 1986; Saverymuttu *et al.*, 1986; Celle *et al.*, 1988; Joseph *et al.*, 1991; Graif *et al.*, 2000; Mathiesen *et al.*, 2002; Saadeh *et al.*, 2002). Todavia, como existem limitações do método (Saadeh *et al.*, 2002; Mottin *et al.*, 2004), até mesmo para o diagnóstico de esteatose são necessários estudos com avaliação histológica para definir a presença e as formas de apresentação de DHGNA em pacientes com DM2.

A biópsia hepática ainda é o único método capaz de definir o prognóstico da DHGNA, determinando tanto o grau de atividade inflamatória como o estadiamento da fibrose. No entanto, é um procedimento invasivo e susceptível a complicações.

No presente estudo tivemos uma complicação clínica por sangramento, com necessidade de internação hospitalar e acompanhamento radiológico (1,0%). Esse tipo de sangramento sem necessidade de transfusão de hemoderivados ou intervenção cirúrgica e/ou radiológica esteve presente em até 1 de 500 biópsias (0,2%) (Myers *et al.*, 2008).

Apesar da importância da histologia no diagnóstico e prognóstico das doenças hepáticas, uma grande parte dos candidatos a BH (30%) não concordou com a realização do procedimento. Bonny e cols. evidenciaram, através de entrevistas com os médicos, que 59% de seus pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C e, portanto, candidatos a BH, não concordaram com o procedimento (Bonny *et al.*, 2003). Em um outro estudo para avaliação histológica de pacientes diabéticos, 37 (29%) de 127 pacientes com esteatose a US não consentiram em ser submetidos a BH (Prashanth *et al.*, 2009).

Com a avaliação histológica confirmamos a elevada prevalência de DHGNA (84 %) naqueles pacientes selecionados por elevação de aminotransferases e/ou presença de esteatose pela US abdominal.

Encontramos também uma alta prevalência de formas mais graves de apresentação histopatológica, com a esteato-hepatite representando quase a totalidade dos casos de DHGNA (75%) e a presença de fibrose moderada a acentuada em pelo menos 1/3 dos pacientes.

Mesmo no grupo de pacientes sem esteatose a BH, pelo menos 40% tinham fibrose, alguns inclusive com fibrose moderada a acentuada. Os casos com fibrose significativa sem esteatose poderiam ser explicados por progressão da DHGNA com perda dos critérios para esteato-hepatite ou erros de amostragem que não possibilitaram o diagnóstico de esteato-hepatite. Outra possibilidade para aqueles

com fibrose perisinusoidal seria a presença de hepatoesclerose, uma entidade com prognóstico ainda pouco conhecido e que se caracteriza por densa proliferação de colágeno perisinusoidal. Esta condição não está associada à presença de DHGNA e parece estar relacionada com a presença de complicações microvasculares do DM (Chen e Brunt, 2009).

Poucos estudos utilizaram a avaliação histológica para determinar a prevalência de DHGNA em pacientes com DM2. A esteato-hepatite esteve presente em 54% a 87% dos pacientes, prevalência similar à do nosso estudo. A prevalência de fibrose moderada e acentuada variou entre 7% e 36% nos pacientes submetidos a BH, selecionados por critérios ultrassonográficos e/ou elevação de aminotransferases (Kemmer *et al.*, 2001; Gupte *et al.*, 2004; Prashanth *et al.*, 2009). No estudo de Prashanth e cols. a média de idade, a duração do DM2, a presença de dislipidemia e de adiposidade central (medida pela CA) nos 83 pacientes com análise histológica foram semelhantes àquelas encontradas em nossa casuística. Entretanto, maior proporção dos pacientes incluídos no nosso estudo eram obesos, hipertensos e usavam metformina (Prashanth *et al.*, 2009). Nos dois outros estudos a casuística foi pequena e não havia descrição das características clínicas dos pacientes incluídos (Kemmer *et al.*, 2001; Gupte *et al.*, 2004). Em todos os três estudos a classificação adotada para o diagnóstico da DHGNA foi a de Brunt e cols. (Brunt *et al.*, 1999). A avaliação histológica foi realizada por um único patologista no estudo de Prashanth e cols. Nos demais estudos não há descrição de quantos patologistas foram responsáveis pela avaliação histológica. Em nenhum dos estudos foi realizada a análise da variabilidade intra ou interexaminador.

Utilizamos a classificação proposta por Kleiner e cols. Uma vantagem desta classificação é que o sistema de pontuação do escore de atividade poderia facilitar a

avaliação da progressão em estudos prospectivos e a resposta ao tratamento em ensaios clínicos. No estudo de Kleiner e cols. houve concordância quase perfeita entre diferentes patologistas para o grau de esteatose e estágio de fibrose. A concordância foi substancial para a presença de inflamação lobular, balonização e corpúsculos de Mallory e, apenas moderada para a presença de inflamação portal (Kleiner *et al.*, 2005).

Analisamos a reprodutibilidade da interpretação dos parâmetros histológicos por dois patologistas experientes. A melhor concordância interexaminador foi para o diagnóstico de esteato-hepatite (kappa de 0,81), o qual foi definido pelos patologistas, independentemente da pontuação do escore de atividade de Kleiner e cols. A concordância foi substancial para a presença de esteatose (kappa=0.76) e a categorização da fibrose em estágios 0 a 2 (ausente a moderada) e 3 a 4 (avançada) (kappa=0.69) e moderada para a categorização da fibrose em estágios 0 a 1 (ausente) e 2 a 4 (moderada/acentuada) (kappa=0.49), presença de inflamação portal (kappa=0.56) e de balonização (kappa=0.45). No estudo de Ratziu e cols. em que os pesquisadores adotaram a classificação de Brunt e cols. a concordância foi substancial para esteatose, estágio de fibrose e presença de balonização, mas houve grande variabilidade para a avaliação da fibrose perisinusoidal e da inflamação lobular (Ratziu *et al.*, 2005). É importante enfatizar que nesse estudo os autores avaliaram a concordância na reavaliação da lâmina por um mesmo examinador e as evidências sugerem que a concordância na interpretação de parâmetros histológicos por um mesmo examinador é superior àquela obtida por diferentes examinadores (Kleiner *et al.*, 2005).

Uma das hipóteses para justificar a grande variabilidade interexaminador para os estágios de fibrose, presença de inflamação lobular, balonização e escore

de atividade NAS seria o emprego de uma classificação mais recente, cuja validade clínica ainda não foi estabelecida. Uma crítica que se faz ao escore de atividade proposto por Kleiner e cols. é que ele foi obtido pela identificação dos parâmetros que se relacionaram com a definição de esteato-hepatite por patologistas. Melhor estratégia seria que os patologistas concordassem primeiro com os parâmetros histológicos selecionados para então testar sua reprodutibilidade em estudos clínicos. Outra possibilidade para explicar as diferenças na interpretação desses parâmetros seriam as dimensões da amostra obtida em nosso estudo, visto que, quanto maior o tamanho da amostra, maior a reprodutibilidade da análise histológica. Por essa razão as últimas recomendações da Associação Americana para o Estudo das Doenças Hepáticas (AASLD) são de que o tamanho do fragmento hepático seja de 2-3cm (Rockey *et al.*, 2009).

Nenhuma das medidas antropométricas, medidas da CA, relação cintura-quadril, IMC esteve associada com o diagnóstico de esteato-hepatite em nosso estudo. Obesidade e adiposidade central não foram capazes de identificar pacientes diabéticos com diagnóstico de esteato-hepatite a BH.

Houve associação de forma independente de parâmetros do perfil lipídico, como valores de HDL-colesterol e presença de hipertrigliceridemia com a presença de esteato-hepatite a BH. Para cada redução de HDL-colesterol de 1 mg/dl o risco de esteato-hepatite aumentava em 6% (razão de chances: 0,94; intervalo de confiança de 95%: 0,89-0,99) e para o aumento de triglicerídeos acima de 150 mg/dl o risco de esteato-hepatite aumentava em cerca de 400% (razão de chances: 3,94; intervalo de confiança de 95%:1,11-14,04).

Outros pesquisadores não encontraram associação de medidas antropométricas, presença da síndrome metabólica e parâmetros do perfil lipídico

com a presença de esteatose e/ou esteato-hepatite a BH em pacientes com DM2 (Kemmer *et al.*, 2001; Gupte *et al.*, 2004; Prashanth *et al.*, 2009).

Os pacientes com esteato-hepatite apresentaram médias de valores de ALT e de Gama-GT superiores àquelas dos pacientes sem esteato-hepatite. Os níveis de ALT associaram-se de forma independente com a presença de esteato-hepatite a BH. Para cada aumento de ALT em 1 UI/L o risco de esteato-hepatite aumentava em 5% (razão de chances: 1,05; intervalo de confiança de 95%: 1,0-1,10). Prashanth e cols. demonstraram na análise multivariada que o nível de ALT se associou de forma independente com a presença de esteato-hepatite e verificaram que para cada aumento de ALT em 1 UI/L o risco de esteato-hepatite aumentava em 4% (razão de chances: 1,04; intervalo de confiança de 95%: 1,0-1,09). As outras variáveis incluídas na análise multivariada foram hipertrigliceridemia, níveis baixos de HDL-colesterol, tempo de diagnóstico de DM2 e presença de HAS. Neste estudo os seis pacientes com ALT elevada tinham esteato-hepatite (Prashanth *et al.*, 2009). Em ambos os estudos, porém, o número de pacientes selecionados apenas por elevação de aminotransferases foi pequeno, e valores acima da normalidade não se associaram com o diagnóstico de esteato-hepatite.

Uma possível explicação para um pequeno percentual de pacientes com ALT elevada seria a de que a faixa de normalidade dos laboratórios não refletiria os valores normais desta enzima para uma população de adultos saudáveis. Novos pontos de corte para ALT foram sugeridos, considerando o valor menor que o percentil 95, com valores de 30U/L para os homens e 19U/L para as mulheres (Prati *et al.*, 2002).

Outra justificativa a ser considerada é a de que a metformina utilizada por 90% dos nossos pacientes pode ter contribuído com a redução dos valores

absolutos de aminotransferases e o aumento da proporção dos pacientes com valores dentro da faixa da normalidade. A metformina foi estudada no tratamento de DHGNA com melhora dos níveis séricos de aminotransferases (Ratziu e Zelber-Sagi, 2009). No entanto, o uso de metformina não foi um fator de proteção para a presença de esteatose a US ou de esteato-hepatite a BH em nosso estudo.

Além disso, outros estudos demonstraram que dosagens de aminotransferases dentro da faixa de normalidade não excluem o diagnóstico de DHGNA e nem a presença de esteato-hepatite e/ou fibrose (Garcia-Monzon *et al.*, 2000; Mofrad *et al.*, 2003; Kunde *et al.*, 2005; Wong *et al.*, 2009). Sendo assim, não podemos considerar que a ALT acima do normal seja um fator preditivo da presença de esteato-hepatite a BH.

Como foi citado anteriormente, a concordância para a avaliação de fibrose foi apenas moderada. Por esse motivo, optamos por analisar o melhor e o pior escore diagnóstico, mesmo levando em consideração que trabalharíamos com uma ampla margem de erro, onde poderíamos tanto subestimar como superestimar a prevalência de fibrose moderada e acentuada na amostra estudada.

Quando analisamos o melhor escore de fibrose houve associação de gama-glutamiltransferase acima dos valores normais com a presença de fibrose moderada e acentuada. Apenas os níveis de gama-glutamiltransferase relacionaram-se independentemente com a presença de fibrose moderada e acentuada, considerando tanto a pior como a melhor possibilidade diagnóstica dos dois patologistas. Quando analisamos o pior escore de fibrose dos patologistas, houve também associação independente do aumento da idade com a presença de fibrose moderada e acentuada. Para cada aumento de gama-glutamiltransferase em 1UI/L o risco de fibrose moderada/acentuada aumentava em 4% (razão de chances: 1,04;

intervalo de confiança de 95%: 1,01-1,06). Na análise logística multivariada, para cada aumento em um ano na idade o risco de fibrose moderada/acentuada aumentava em 8% (razão de chances: 1,08; intervalo de confiança de 95%: 1,01-1,16).

Há evidências da gama-glutamilttransferase como marcador de estresse oxidativo em pacientes com diabetes e é plausível que níveis de gama-gt estejam relacionados aos insultos secundários à esteatose hepática nas formas avançadas de DHGNA. Em um estudo em 50 biópsias de pacientes com DHGNA, níveis elevados de gama-gt correlacionaram-se com estágio mais avançado de fibrose, mas não com o grau de esteatose e/ou inflamação (Tahan *et al.*, 2008).

Em contraste com os resultados do presente estudo, alguns relataram em população de diabéticos associação da fibrose a BH com níveis de HDL-colesterol (Prashanth *et al.*, 2009), de ALT, de AST e a relação de AST/ALT (Amarapurka *et al.*, 2006). O segundo estudo avaliou 36 pacientes, dos quais apenas 11 apresentavam fibrose, e analisou as variáveis associadas à presença de fibrose nesta pequena amostra. Em ambos a classificação empregada para avaliação histológica foi a de Brunt e cols. (Brunt *et al.*, 1999).

Outra correlação interessante foi a presença de inflamação portal mais do que mínima associada com fibrose moderada/acentuada a BH. A inflamação portal pode ser um marcador de fibrose avançada em DHGNA. Num trabalho recente a inflamação portal mais do que mínima foi detectada em 23% das 728 biópsias de DHGNA em adultos e sua presença se correlacionou com idade mais elevada, medidas de resistência a insulina, obesidade e uso de medicações para DM e hipertensão arterial (Brunt *et al.*, 2009). Em nosso estudo a inflamação portal maior do que mínima foi evidenciada em 30% e 52% dos casos pelo melhor e pelo pior

escore, respectivamente. Não sabemos até o momento qual o papel da inflamação portal na DHGNA. O acompanhamento desse grupo de pacientes pode esclarecer a real importância da inflamação portal na evolução da DHGNA, especialmente em pacientes com DM2.

Quando analisamos também os pacientes com fibrose avançada a BH e/ou a US, observamos que esses pacientes apresentavam maior proporção de valores anormais e maiores níveis séricos das enzimas hepáticas. Como poderíamos supor, os pacientes com fibrose avançada apresentaram também maiores valores da relação alanina aminotransferase/aspartato aminotransferase e de Gama-GT e menores níveis de albumina sérica.

Estudos em que modelos foram propostos para avaliação de fibrose identificaram idade, IMC, presença de DM, relação AST/ALT e albumina sérica como os parâmetros que se associaram com a presença de fibrose avançada a BH (Angulo *et al.*, 2007; Harrison *et al.*, 2008). Também numa análise de 30 biópsias de DHGNA, Brunt e cols encontraram associação da fibrose igual ou superior ao estágio 2 apenas com a relação AST/ALT (Brunt *et al.*, 2004).

Nos estudos de seguimento com período de acompanhamento de 3,2 a 13,7 anos, os fatores que se associaram à progressão do estágio de fibrose, além da presença de DM, foram ganho ponderal durante o acompanhamento, o estágio de fibrose e a presença de qualquer grau de inflamação à biópsia inicial (Adams *et al.*, 2005b; Ekstedt *et al.*, 2006; Argo *et al.*, 2009). No estudo com maior tempo de acompanhamento nenhum dos pacientes com fibrose inferior ao estágio 2 apresentou complicações clínicas relacionadas à hepatopatia crônica (Ekstedt *et al.*, 2006).

Surpreendeu-nos a ausência de associação da presença de esteatose ou

dos estágios mais avançados da DHGNA com os parâmetros clínicos e laboratoriais do DM. Não houve associação da presença de esteato-hepatite ou fibrose moderada/acentuada com tempo de diagnóstico do DM, uso de insulina, níveis de glicose, de hemoglobina glicosilada e presença de complicações micro e macrovasculares do DM. Concordando com nossos resultados, outros estudos também não mostraram diferenças nos parâmetros de controle glicêmico em pacientes diabéticos com esteato-hepatite ou fibrose a BH (Kemmer *et al.*, 2001; Gupte *et al.*, 2004; Prashanth *et al.*, 2009). É possível que encontrássemos associação da gravidade da DHGNA com complicações degenerativas do DM caso não tivéssemos excluído do estudo os pacientes com complicações clínicas graves relacionadas ao DM2. Entretanto, para a análise de esteatose pela US abdominal não foram excluídos os pacientes com complicações graves por DM2 e, mesmo assim, não houve associação da presença de esteatose com as complicações micro e macrovasculares de DM2, tempo de diagnóstico de DM, uso de insulina e parâmetros laboratoriais de controle glicêmico. É possível que com um número maior de pacientes avaliados – como ocorreu no estudo de Targher e cols., que incluiu 2.839 pacientes – esta associação pudesse ter sido observada (Targher *et al.*, 2007).

Targher e cols. demonstraram associação de complicações macrovasculares com a presença de esteatose a US, e esta associação foi independente de outros fatores de risco cardiovascular, como controle glicêmico, medicações prescritas e a presença de síndrome metabólica (Targher *et al.*, 2007). Num estudo mais recente, os mesmos autores encontraram associação da presença de esteatose com complicações microvasculares como nefropatia e retinopatia (Targher *et al.*, 2008a). No nosso estudo os pacientes com esteatose a US apresentaram menor proporção

de todas as complicações microvasculares, com diferença estatisticamente significativa para a presença de retinopatia. Os resultados foram semelhantes na análise comparativa de acordo com a presença de esteato-hepatite. Os pacientes com EH também apresentaram menor proporção de retinopatia e neuropatia. Em contrapartida, a presença de microalbuminúria esteve presente em 30% dos pacientes com EH e em apenas 16% dos pacientes sem EH. É possível que possa ser demonstrada associação desta complicação microvascular inicial com a presença de esteato-hepatite com a inclusão de um maior número de pacientes em estudos com análise histológica.

A falta de associação com os parâmetros de controle do DM e com complicações a longo prazo sugere que a progressão da DHGNA pode seguir um curso independente da evolução do DM. Talvez a presença de DM já possa apontar para uma evolução mais longa da DHGNA. Por isso o diagnóstico de DM seria um marcador das formas avançadas de apresentação histológica da DHGNA.

Pacientes com DHGNA e DM compartilham vários mecanismos fisiopatológicos como aumento da resistência a insulina, de citocinas circulantes e do estresse oxidativo. Por conseguinte, intervenções terapêuticas para o DM, como redução de peso e uso de medicações que atuam na resistência a insulina, são também recomendadas no tratamento da DHGNA. Mais ainda, devido ao maior risco de desenvolvimento de DM em pacientes com DHGNA (Friis-Liby *et al.*, 2004; Adams *et al.*, 2005b; Ekstedt *et al.*, 2006; Fan *et al.*, 2007), é possível que o tratamento da DHGNA possa impedir o aparecimento de DM. Uma outra questão que se impõe é se a melhora do controle glicêmico a longo prazo e de outros fatores de risco como a realização de atividade física regular, a perda de peso e o tratamento da dislipidemia podem diminuir o grau de inflamação e impedir a

progressão da fibrose.

Algumas limitações do nosso estudo merecem ser citadas. A primeira é o desenho seccional do estudo, que não permite nenhuma inferência causal a respeito da etiologia e progressão de DHGNA em pacientes com DM2. A segunda limitação se refere ao tamanho amostral do estudo. Inicialmente para uma população de 500 pacientes com DM2, com uma prevalência estimada de 30%, o número amostral foi de 127 pacientes. Posteriormente, com o resultado do nosso primeiro estudo, recalculamos o tamanho amostral baseado na prevalência de esteatose pela ultrassonografia. Obtivemos um número entre 69 (prevalência entre 70% e 80%) e 196 (prevalência entre 70% e 75%). Outra limitação se refere ao fato de termos excluído pacientes com idade superior a 65 anos e pacientes com complicações avançadas do diabetes como candidatos à biópsia hepática. Dessa forma, nossos achados histopatológicos não podem ser generalizados para pacientes mais idosos e com complicações graves por DM2. A DHGNA ocorre com maior frequência entre a quinta e a sexta décadas, mas a sua prevalência parece aumentar com a idade (Hilden *et al.*, 1977; Browning *et al.*, 2004; TARGER, 2007). Num grupo de 88 pacientes com mais de 65 anos encontramos prevalências de esteatose (67%) e de sinais de hepatopatia crônica (4%) a US semelhantes àsquelas encontradas nos pacientes incluídos no estudo. No entanto, esse número de pacientes é insuficiente para a avaliação da prevalência de achados ultrassonográficos sugestivos de DHGNA em pacientes com mais de 65 anos.

Também não incluímos, nos critérios de seleção para BH, sinais de hepatopatia crônica a US. Conseqüentemente, foram submetidos à avaliação histológica apenas os pacientes com sinais de hepatopatia a US que também tinham esteatose e/ou elevação de aminotransferases, e destes, dois de cinco tinham

outras patologias que justificavam os achados ultrassonográficos. Supondo que todos os demais pacientes com achados sugestivos de hepatopatia crônica apresentassem DHGNA, teríamos um cenário pior com maior proporção de pacientes com cirrose. Por esta razão, fizemos uma análise agrupando os pacientes com achados sugestivos de hepatopatia crônica (foram excluídos os dois que tinham outras patologias) com os pacientes com fibrose acentuada a BH (estágios de fibrose 3 e 4).

Para quantificar a ingestão de álcool utilizamos a história colhida com o paciente e as informações obtidas por familiares. Todavia, não empregamos nenhum questionário padronizado para avaliação de dependência ou abuso de álcool. A história clínica nem sempre tem boa acurácia na avaliação da ingestão alcoólica, especialmente no que diz respeito à carga total de álcool durante toda a vida (Hayashi *et al.*, 2004). Marcadores específicos de ingestão crônica de álcool parecem promissores, mas não estão disponíveis na prática clínica.

A maioria dos trabalhos excluíram consumo de álcool com ingestão de etanol acima de 20g/dia, sem aplicação de questionário padronizado, confirmação da história colhida com familiares ou utilização de marcadores específicos. Os pacientes excluídos por ingestão de álcool representaram 12% da casuística no estudo de Targher e cols. e 8% no nosso. No nosso estudo 27% dos pacientes relatavam consumo atual ou prévio de álcool em limites inferiores a 20g (sexo feminino) e 30g (sexo masculino) de etanol/dia. Apesar disso, não houve associação significativa da ingestão alcoólica dentro dos critérios permitidos para inclusão no estudo e a presença de esteatose a US ou esteato-hepatite e/ou fibrose moderada/acentuada a BH.

No final do período houve mudança nos limites superiores de

aminotransferases e da gama-glutamilttransferase, porém apenas dois pacientes fizeram os primeiros exames após a mudança da faixa da normalidade. Além disso, avaliamos o número de vezes o valor superior da normalidade das enzimas hepáticas e os resultados das associações com esteato-hepatite e fibrose moderada/acentuada foram semelhantes aos dos valores absolutos.

Como afirmado anteriormente, um percentual significativo de candidatos à avaliação histológica não concordou com a BH e outros pacientes acabaram abandonando o acompanhamento sem realizá-la. Com o intuito de avaliar a influência da perda desses pacientes nos nossos resultados, fizemos a análise comparativa dos pacientes submetidos ou não ao procedimento. Notamos que não houve diferença significativa nos dados sociodemográficos e nas variáveis clínicas e laboratoriais entre os candidatos a BH que foram ou não submetidos ao procedimento. A única diferença significativa entre os dois grupos foi a proporção de pacientes que usavam AAS, menor no grupo de pacientes que foi submetido a BH.

Outros fatores que podem ter subestimado os achados de esteato-hepatite e estágios mais avançados nos pacientes submetidos a análise histológica foram a mediana do tamanho do fragmento e percentual de pacientes com amostras superiores a 2cm. Entretanto cabe reforçar que infelizmente fragmentos de BH com dimensões superiores a 2cm representam a minoria dos fragmentos obtidos (Poynard *et al.*, 2007). Nos estudos de prevalência de DHGNA em pacientes com DM2 não há qualquer referência à mediana do fragmento ou à proporção de pacientes com amostra superior a 20mm.

Uma outra questão que merece ser discutida é que nossos dados, bem como os de outros estudos disponíveis na literatura, permitem determinar a prevalência da DHGNA e de seu espectro em pacientes selecionados por critérios

ultrassonográficos e/ou elevação de aminotransferases. Entretanto, a prevalência da DHGNA em diabéticos não pode ser determinada com precisão, já que para isso seria necessária a avaliação histológica em todos os pacientes diabéticos incluídos no estudo, mesmo nos pacientes com US e valores de aminotransferases dentro da normalidade, pois estes também podem ter DHGNA.

Apesar das limitações citadas, este estudo merece atenção, pois são poucos os estudos de prevalência de DHGNA que incluam avaliação histológica em um número representativo de pacientes com DM2. Além disso, esses pacientes estão em acompanhamento e poderemos observar a relação do controle metabólico e de outros fatores de risco na evolução da DHGNA em pacientes com DM2.

A alta prevalência de DHGNA em diabéticos tipo 2 e a ausência de dados clínicos e laboratoriais que permitam identificar com precisão aqueles com maior risco de evolução para formas mais graves de DHGNA (presença esteato-hepatite e fibrose moderada a grave), observadas em nosso estudo, reforçam a recomendação de que os pacientes que apresentam elevação de aminotransferases em dosagens seriadas e/ou a presença de esteatose a US abdominal devem ser submetidos à biópsia hepática. Esta abordagem permitirá não só identificar os pacientes diabéticos com maior risco de progressão da doença hepática, como também estabelecer as medidas de intervenção que possam reduzir este risco.

O desafio nos próximos anos será identificar métodos não invasivos e com boa acurácia tanto para o diagnóstico das formas mais graves da DHGNA como para o acompanhamento da resposta às intervenções terapêuticas.

8 CONCLUSÕES

1. A prevalência de DHGNA avaliada pela ultrassonografia abdominal é elevada em pacientes com DM2.
2. A prevalência de esteato-hepatite e fibrose moderada/ acentuada é elevada em pacientes com DM2 com achados ultrassonográficos de esteatose e /ou elevação de aminotransferases.
3. Não houve associação dos parâmetros do controle glicêmico ou complicações clínicas do diabetes com a presença de DHGNA à ultrassonografia abdominal ou com a presença de esteato-hepatite ou fibrose moderada/acentuada à biópsia hepática.
4. Houve associação de forma independente da presença de hipertrigliceridemia, de menores níveis de HDL colesterol e de maiores médias de alanina aminotransferase com o diagnóstico de esteato-hepatite. Apenas os valores de gama-glutamilttransferase associaram-se com fibrose moderada/acentuada levando em consideração a melhor e a pior possibilidade diagnóstica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, *et al.* The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005a Jul;129(1):113-121.

Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol*. 2005b Jan;42(1):132-138.

Adams LA, Zein CO, Angulo P, Lindor KD. A pilot trial of pentoxifylline in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2004 Dec;99(12):2365-2368.

Aithal GP, Thomas JA, Kaye PV, Lawson A, Ryder SD, Spendlove I, *et al.* Randomized, placebo-controlled trial of pioglitazone in nondiabetic subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2008 Oct;135(4):1176-1184.

Amarapurka DN, Amarapurkar AD, Patel ND, Agal S, Baigal R, Gupte P, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) with diabetes: predictors of liver fibrosis. *Ann Hepatol*. 2006 Jan-Mar;5(1):30-33.

Andersen T, Gluud C. Liver morphology in morbid obesity: a literature study. *Int J Obes*. 1984;8(2):97-106.

Angelico F, Del Ben M, Conti R, Francioso S, Feole K, Fiorello S, *et al.* Insulin resistance, the metabolic syndrome, and nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Mar;90(3):1578-1582.

Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2002 Apr 18;346(16):1221-1231.

Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, *et al.* The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007 Apr;45(4):846-854.

Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 1999 Dec;30(6):1356-1362.

Argo CK, Caldwell SH. Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2009 Nov;13(4):511-531.

Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, Caldwell SH. Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 2009 Aug;51(2):371-379.

- Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology*. 1994 Oct;107(4):1103-1109.
- Balkau B. New diagnostic criteria for diabetes and mortality in older adults. DECODE Study Group. European Diabetes Epidemiology Group. *Lancet*. 1999 Jan 2;353(9146):68-69.
- Basaranoglu M, Acbay O, Sonsuz A. A controlled trial of gemfibrozil in the treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 1999 Aug;31(2):384.
- Bedossa P, Moucari R, Chelbi E, Asselah T, Paradis V, Vidaud M, *et al*. Evidence for a role of nonalcoholic steatohepatitis in hepatitis C: a prospective study. *Hepatology*. 2007 Aug;46(2):380-387.
- Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, *et al*. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006 Nov 30;355(22):2297-2307.
- Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Croce LS, Brandi G, Sasso F, *et al*. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med*. 2000 Jan 18;132(2):112-117.
- Bellentani S, Tiribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol*. 2001 Oct;35(4):531-537.
- Bonny C, Rayssiguier R, Ughetto S, Aublet-Cuvelier B, Baranger J, Blanchet G, *et al*. [Medical practices and expectations of general practitioners in relation to hepatitis C virus infection in the Auvergne region]. *Gastroenterol Clin Biol*. 2003 Nov;27(11):1021-1025.
- Braillon A, Capron JP, Herve MA, Degott C, Quenum C. Liver in obesity. *Gut*. 1985 Feb;26(2):133-139.
- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, *et al*. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004 Dec;40(6):1387-1395.
- 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):2467-2474.
- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Unalp A, Behling CE, Lavine JE, *et al*. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology*. 2009 Mar;49(3):809-820.
- Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA, Oliver D, Wehmeier KR, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: histologic features and clinical correlations with 30 blinded biopsy specimens. *Hum Pathol*. 2004 Sep;35(9):1070-82.

Brunt EM, Ramrakhiani S, Cordes BG, Neuschwander-Tetri BA, Janney CG, Bacon BR, *et al.* Concurrence of histologic features of steatohepatitis with other forms of chronic liver disease. *Mod Pathol.* 2003 Jan;16(1):49-56.

Brunt EM, Tiniakos DG. Alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease. In: Odze RD, Goldblum JR, Crawford JM, editors. *Pathology of the GI tract, liver, biliary tract and pancreas.* Philadelphia: Saunders; 2009. p. 1087-1114.

Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, *et al.* A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2005 May;100(5):1082-1090.

Callaway CW, Chumlea WC, Bouchard C, Himes JH, Lohman TG, Martin AD, *et al.* Circumferences. In: Lohman TG, Roche AF, Martorell R, editors. *Anthropometric standardization reference manual.* Champaign: Human Kinetics Books; 1991. p. 44-45.

Cardoso CR, Salles GF. Macro and microvascular complications are determinants of increased infection-related mortality in Brazilian type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007 Jan;75(1):51-58.

Celle G, Savarino V, Picciotto A, Magnolia MR, Scalabrini P, Dodero M. Is hepatic ultrasonography a valid alternative tool to liver biopsy? Report on 507 cases studied with both techniques. *Dig Dis Sci.* 1988 Apr;33(4):467-471.

Cerda C, Perez-Ayuso RM, Riquelme A, Soza A, Villaseca P, Sir-Petermann T, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *J Hepatol.* 2007 Sep;47(3):412-417.

Chan DF, Li AM, Chu WC, Chan MH, Wong EM, Liu EK, *et al.* Hepatic steatosis in obese Chinese children. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004 Oct;28(10):1257-1263.

Charles MA, Eschwege E, Thibault N, Claude JR, Warnet JM, Rosselin GE, *et al.* The role of non-esterified fatty acids in the deterioration of glucose tolerance in Caucasian subjects: results of the Paris Prospective Study. *Diabetologia.* 1997 Sep;40(9):1101-1106.

Charlton M, Angulo P, Chalasani N, Merriman R, Viker K, Charatcharoenwitthaya P, *et al.* Low circulating levels of dehydroepiandrosterone in histologically advanced nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2008 Feb;47(2):484-492.

Chen G, Brunt EM. Diabetic hepatosclerosis: a 10-year autopsy series. *Liver Int.* 2009 Aug;29(7):1044-1050.

Cheung O, Kapoor A, Puri P, Sistrun S, Luketic VA, Sargeant CC, *et al.* The impact of fat distribution on the severity of nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hepatology.* 2007 Oct;46(4):1091-1100.

Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2002 May;122(6):1649-1657.

- Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2003 May;98(5):960-967.
- Conjeevaram HS, Kleiner DE, Everhart JE, Hoofnagle JH, Zacks S, Afdhal NH, *et al*. Race, insulin resistance and hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2007 Jan;45(1):80-87.
- Cusi K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2009 Nov;13(4):545-563.
- Dallal RM, Mattar SG, Lord JL, Watson AR, Cottam DR, Eid GM, *et al*. Results of laparoscopic gastric bypass in patients with cirrhosis. *Obes Surg*. 2004 Jan;14(1):47-53.
- Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001 Jul;121(1):91-100.
- Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2005 May;115(5):1343-1351.
- Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev*. 1997 Dec;18(6):774-800.
- Edelstein SL, Knowler WC, Bain RP, Andres R, Barrett-Connor EL, Dowse GK, *et al*. Predictors of progression from impaired glucose tolerance to NIDDM: an analysis of six prospective studies. *Diabetes*. 1997 Apr;46(4):701-710.
- Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, *et al*. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*. 2006 Oct;44(4):865-873.
- el-Hassan AY, Ibrahim EM, al-Mulhim FA, Nabhan AA, Chammas MY. Fatty infiltration of the liver: analysis of prevalence, radiological and clinical features and influence on patient management. *Br J Radiol*. 1992 Sep;65(777):774-778.
- Elias MC, Parise ER, Carvalho LD, Szejnfeld D, Netto JP. Effect of 6-month nutritional intervention on non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition*. 2009 Dec 17.
- Enzi G, Gasparo M, Biondetti PR, Fiore D, Semisa M, Zurlo F. Subcutaneous and visceral fat distribution according to sex, age, and overweight, evaluated by computed tomography. *Am J Clin Nutr*. 1986 Dec;44(6):739-746.
- Erbey JR, Silberman C, Lydick E. Prevalence of abnormal serum alanine aminotransferase levels in obese patients and patients with type 2 diabetes. *Am J Med*. 2000 Nov;109(7):588-590.

Examination Committee of Criteria for “Obesity Disease” in Japan. Japan Society for the Study of Obesity. New criteria for “obesity disease” in Japan. *Circ J*. 2002 Nov; 66(11):987–992.

Fan JG, Li F, Cai XB, Peng YD, Ao QH, Gao Y. Effects of nonalcoholic fatty liver disease on the development of metabolic disorders. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007 Jul;22(7):1086-1091.

Foster KJ, Dewbury KC, Griffith AH, Wright R. The accuracy of ultrasound in the detection of fatty infiltration of the liver. *Br J Radiol*. 1980a May;53(629):440-442.

Foster KJ, Griffith AH, Dewbury K, Price CP, Wright R. Liver disease in patients with diabetes mellitus. *Postgrad Med J*. 1980b Nov;56(661):767-772.

Franzese A, Vajro P, Argenziano A, Puzziello A, Iannucci MP, Saviano MC, *et al*. Liver involvement in obese children. Ultrasonography and liver enzyme levels at diagnosis and during follow-up in an Italian population. *Dig Dis Sci*. 1997 Jul;42(7):1428-1432.

Friis-Liby I, Aldenborg F, Jerlstad P, Rundstrom K, Bjornsson E. High prevalence of metabolic complications in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol*. 2004 Sep;39(9):864-869.

Fukasato T, Fukushima J, Shiga J, Takahashi Y, Nakano T, Maeyama S, *et al*. Interobserver variation in the histopathological assessment of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res*. 2005 Oct;33(2):122-127.

Gambino R, Cassader M, Pagano G, Durazzo M, Musso G. Polymorphism in microsomal triglyceride transfer protein: a link between liver disease and atherogenic postprandial lipid profile in NASH? *Hepatology*. 2007 May;45(5):1097-1107.

Garcia-Monzon C, Martin-Perez E, Iacono OL, Fernandez-Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, *et al*. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol*. 2000 Nov;33(5):716-724.

Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, *et al*. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003 Nov;26(11):3160-3167.

George DK, Goldwurm S, MacDonald GA, Cowley LL, Walker NI, Ward PJ, *et al*. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology*. 1998 Feb;114(2):311-318.

Graif M, Yanuka M, Baraz M, Blank A, Moshkovitz M, Kessler A, *et al*. Quantitative estimation of attenuation in ultrasound video images: correlation with histology in diffuse liver disease. *Invest Radiol*. 2000 May;35(5):319-324.

Grant GM, Chandhoke V, Younossi ZM. Specific Disorders Associated With NAFLD. In: Farrell GC, George J, Hall PM, McCullough AJ, editors. *Fatty liver disease: NASH and related disorders*. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing; 2005. p. 249-262.

Ground KE. Liver pathology in aircrew. *Aviat Space Environ Med.* 1982 Jan;53(1):14-18.

Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, *et al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation.* 2005 Oct 25;112(17):2735-2752.

Guha IN, Parkes J, Roderick PR, Harris S, Rosenberg WM. Non-invasive markers associated with liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Gut.* 2006 Nov;55(11):1650-1660.

Guimarães RA. Hepatopatia gordurosa não alcoólica: avaliação da prevalência e dos aspectos clínicos, bioquímicos, ultra-sonográficos e histopatológicos em pacientes obesos [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2003.

Gupte P, Amarapurkar D, Agal S, Baijal R, Kulshrestha P, Pramanik S, *et al.* Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004 Aug;19(8):854-858.

Harrison SA, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis.* 2004 Nov;8(4):861-879, ix.

Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple nafld clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut* 2008; 57;1441-7.

Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol.* 2003 Nov;98(11):2485-2490.

Hashimoto E, Yatsuji S, Tobar M, Taniai M, Torii N, Tokushige K, *et al.* Hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol.* 2009;44 Suppl 19:89-95.

Hashizume H, Sato K, Takagi H, Hirokawa T, Kojima A, Sohara N, *et al.* Primary liver cancers with nonalcoholic steatohepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007 Oct;19(10):827-834.

Haukeland JW, Konopski Z, Linnestad P, Azimy S, Marit Loberg E, Haaland T, *et al.* Abnormal glucose tolerance is a predictor of steatohepatitis and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol.* 2005 Dec;40(12):1469-1477.

Hayashi PH, Harrison SA, Torgerson S, Perez TA, Nochajski T, Russell M. Cognitive lifetime drinking history in nonalcoholic fatty liver disease: some cases may be alcohol related. *Am J Gastroenterol.* 2004 Jan;99(1):76-81.

Hilden M, Christoffersen P, Juhl E, Dalgaard JB. Liver histology in a 'normal' population--examinations of 503 consecutive fatal traffic casualties. *Scand J Gastroenterol.* 1977;12(5):593-597.

Horlander JC, Kwo PY, Cummings OW, Koukoulis G. Atorvastatin for the treatment of NASH [abstract]. *Gastroenterology.* 2001;120:A544.

Hsieh SD, Yoshinaga H. Is there any difference in coronary heart disease risk factors and prevalence of fatty liver in subjects with normal body mass index having different physiques? *Tohoku J Exp Med.* 1995 Nov;177(3):223-231.

Hui JM, Farrell GC, Kench JG, George J. High sensitivity C-reactive protein values do not reliably predict the severity of histological changes in NAFLD. *Hepatology.* 2004 May;39(5):1458-1459.

Hui JM, Kench JG, Chitturi S, Sud A, Farrell GC, Byth K, *et al.* Long-term outcomes of cirrhosis in nonalcoholic steatohepatitis compared with hepatitis C. *Hepatology.* 2003 Aug;38(2):420-427.

Joseph AE, Saverymuttu SH, al-Sam S, Cook MG, Maxwell JD. Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. *Clin Radiol.* 1991 Jan;43(1):26-31.

Kang H, Greenson JK, Omo JT, Chao C, Peterman D, Anderson L, *et al.* Metabolic syndrome is associated with greater histologic severity, higher carbohydrate, and lower fat diet in patients with NAFLD. *Am J Gastroenterol.* 2006 Oct;101(10):2247-2253.

Kelley DE, McKolanis TM, Hegazi RA, Kuller LH, Kalhan SC. Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 Oct;285(4):E906-916.

Kemmer NM, McKinney KH, Xiao SY, Singh H, Murray R, Abdo B, *et al.* High prevalence of NASH among Mexican American females with type II diabetes mellitus. *Gastroenterology.* 2001 April;120(5, Suppl 1):A117.

Kim CH, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease: a manifestation of the metabolic syndrome. *Cleve Clin J Med.* 2008 Oct;75(10):721-728.

Kirsch R, Hall PM, George J, Farrel GC, McCullough AJ. Recent advances. In: Farrell GC, George J, Hall PM, McCullough AJ, editors. *Fatty liver disease: NASH and related disorders.* Oxford: Wiley-Blackwell Publishing; 2005. p. 289-302.

Klain J, Fraser D, Goldstein J, Peiser J, Avinoah E, Ovnat A, *et al.* Liver histology abnormalities in the morbidly obese. *Hepatology.* 1989 Nov;10(5):873-876.

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):1313-1321.

Koehler E, Watt K, Charlton M. Fatty liver and liver transplantation. *Clin Liver Dis*. 2009 Nov;13(4):621-630.

Kotronen A, Juurinen L, Hakkarainen A, Westerbacka J, Corner A, Bergholm R, *et al*. Liver fat is increased in type 2 diabetic patients and underestimated by serum alanine aminotransferase compared with equally obese nondiabetic subjects. *Diabetes Care*. 2008 Jan;31(1):165-169.

Kral JG, Schaffner F, Pierson RN, Jr., Wang J. Body fat topography as an independent predictor of fatty liver. *Metabolism*. 1993 May;42(5):548-551.

Kral JG, Thung SN, Biron S, Hould FS, Lebel S, Marceau S, *et al*. Effects of surgical treatment of the metabolic syndrome on liver fibrosis and cirrhosis. *Surgery*. 2004 Jan;135(1):48-58.

Kumar KS, Malet PF. Nonalcoholic steatohepatitis. *Mayo Clin Proc*. 2000 Jul;75(7):733-739.

Kunde SS, Lazenby AJ, Clements RH, Abrams GA. Spectrum of NAFLD and diagnostic implications of the proposed new normal range for serum ALT in obese women. *Hepatology*. 2005 Sep;42(3):650-656.

Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, Gossard A, Gores GJ, Ludwig J, *et al*. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology*. 1996 Jun;23(6):1464-1467.

Lazo M, Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective. *Semin Liver Dis*. 2008 Nov;28(4):339-350.

Lazo M, Selvin E, Clark JM. Brief communication: clinical implications of short-term variability in liver function test results. *Ann Intern Med*. 2008 Mar 4;148(5):348-352.

Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: a study of 49 patients. *Hum Pathol*. 1989 Jun;20(6):594-598.

Leite NC, Salles GF, Araujo AL, Villela-Nogueira CA, Cardoso CR. Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus. *Liver Int*. 2009 Jan;29(1):113-119.

Lemieux S, Prud'homme D, Bouchard C, Tremblay A, Despres JP. Sex differences in the relation of visceral adipose tissue accumulation to total body fatness. *Am J Clin Nutr*. 1993 Oct;58(4):463-467.

Lima ML, Mourao SC, Diniz MT, Leite VH. Hepatic histopathology of patients with morbid obesity submitted to gastric bypass. *Obes Surg*. 2005 May;15(5):661-669.

Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, *et al*. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology*. 2004 Mar;39(3):770-778.

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):434-438.

Lutchman G, Modi A, Kleiner DE, Promrat K, Heller T, Ghany M, *et al.* The effects of discontinuing pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2007 Aug;46(2):424-429.

Luyckx FH, Desai C, Thiry A, Dewe W, Scheen AJ, Gielen JE, *et al.* Liver abnormalities in severely obese subjects: effect of drastic weight loss after gastroplasty. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998 Mar;22(3):222-226.

Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol.* 2006 Oct;45(4):600-606.

Malik R, Chang M, Bhaskar K, Nasser I, Curry M, Schuppan D, *et al.* The clinical utility of biomarkers and the nonalcoholic steatohepatitis CRN liver biopsy scoring system in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009 Apr;24(4):564-568.

Marceau P, Biron S, Hould FS, Marceau S, Simard S, Thung SN, *et al.* Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 May;84(5):1513-1517.

Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, *et al.* Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med.* 1999 Nov;107(5):450-455.

Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, *et al.* Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology.* 2003 Apr;37(4):917-923.

Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Marzocchi R, Zannoni C, Vanni E, *et al.* Non-alcoholic steatohepatitis in patients cared in metabolic units. *Diabetes Res Clin Pract.* 2004 Feb;63(2):143-151.

Marrero JA, Fontana RJ, Su GL, Conjeevaram HS, Emick DM, Lok AS. NAFLD may be a common underlying liver disease in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. *Hepatology.* 2002 Dec;36(6):1349-1354.

Mathiesen UL, Franzen LE, Aselius H, Resjo M, Jacobsson L, Foberg U, *et al.* Increased liver echogenicity at ultrasound examination reflects degree of steatosis but not of fibrosis in asymptomatic patients with mild/moderate abnormalities of liver transaminases. *Dig Liver Dis.* 2002 Jul;34(7):516-522.

Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology.* 1999 Jun;116(6):1413-1419.

Mendler MH, Bouillet P, Le Sidaner A, Lavoine E, Labrousse F, Sautereau D, *et al.* Dual-energy CT in the diagnosis and quantification of fatty liver: limited clinical value in comparison to ultrasound scan and single-energy CT, with special reference to iron overload. *J Hepatol.* 1998 May;28(5):785-794.

Mendonça CP, dos Anjos LA. [Dietary and physical activity factors as determinants of the increase in overweight/obesity in Brazil]. *Cad Saude Publica.* 2004 May-Jun;20(3):698-709.

Merat S, Aduli M, Kazemi R, Sotoudeh M, Sedighi N, Sohrabi M, *et al.* Liver histology changes in nonalcoholic steatohepatitis after one year of treatment with probucol. *Dig Dis Sci.* 2008 Aug;53(8):2246-2250.

Miele L, Beale G, Patman G, Nobili V, Leathart J, Grieco A, *et al.* The Kruppel-like factor 6 genotype is associated with fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2008 Jul;135(1):282-291 e281.

Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, *et al.* Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology.* 2003 Jun;37(6):1286-1292.

Mohanty SR, Troy TN, Huo D, O'Brien BL, Jensen DM, Hart J. Influence of ethnicity on histological differences in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2009 Apr;50(4):797-804.

Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia.* 2001 Sep;44 Suppl 2:S14-21.

Mottin CC, Moretto M, Padoin AV, Swarowsky AM, Toneto MG, Glock L, *et al.* The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. *Obes Surg.* 2004 May;14(5):635-637.

Muggeo M, Verlato G, Bonora E, Bressan F, Girotto S, Corbellini M, *et al.* The Verona diabetes study: a population-based survey on known diabetes mellitus prevalence and 5-year all-cause mortality. *Diabetologia.* 1995 Mar;38(3):318-325.

Musso G, Gambino R, De Michieli F, Durazzo M, Pagano G, Cassader M. Adiponectin gene polymorphisms modulate acute adiponectin response to dietary fat: Possible pathogenetic role in NASH. *Hepatology.* 2008 Apr;47(4):1167-1177.

Myers RP, Fong A, Shaheen AA. Utilization rates, complications and costs of percutaneous liver biopsy: a population-based study including 4275 biopsies. *Liver Int.* 2008 May;28(5):705-712.

Namikawa C, Shu-Ping Z, Vyselaar JR, Nozaki Y, Nemoto Y, Ono M, *et al.* Polymorphisms of microsomal triglyceride transfer protein gene and manganese superoxide dismutase gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2004 May;40(5):781-786.

Needleman L, Kurtz AB, Rifkin MD, Cooper HS, Pasto ME, Goldberg BB. Sonography of diffuse benign liver disease: accuracy of pattern recognition and grading. *AJR Am J Roentgenol*. 1986 May;146(5):1011-1015.

Neuschwander-Tetri BA. Lifestyle modification as the primary treatment of NASH. *Clin Liver Dis*. 2009 Nov;13(4):649-665.

Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Oliver D, Bacon BR. Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR-gamma ligand rosiglitazone. *Hepatology*. 2003 Oct;38(4):1008-1017.

New criteria for 'obesity disease' in Japan. *Circ J*. 2002 Nov;66(11):987-992.

Newton JL, Jones DE, Henderson E, Kane L, Wilton K, Burt AD, *et al*. Fatigue in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is significant and associates with inactivity and excessive daytime sleepiness but not with liver disease severity or insulin resistance. *Gut*. 2008 Jun;57(6):807-813.

Nobili V, Manco M, Devito R, Di Ciommo V, Comparcola D, Sartorelli MR, *et al*. Lifestyle intervention and antioxidant therapy in children with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Hepatology*. 2008 Jul;48(1):119-128.

Nocito A, Dahm F, Jochum W, Jang JH, Georgiev P, Bader M, *et al*. Serotonin mediates oxidative stress and mitochondrial toxicity in a murine model of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2007 Aug;133(2):608-618.

Novak D, Lewis JH. Drug-induced liver disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2003 May;19(3):203-215.

Oguzkurt L, Yildirim T, Torun D, Tercan F, Kizilkilic O, Niron EA. Hepatic vein Doppler waveform in patients with diffuse fatty infiltration of the liver. *Eur J Radiol*. 2005 May;54(2):253-257.

Oliveira JE, Milech A, Franco LJ. The prevalence of diabetes in Rio de Janeiro, Brazil. The Cooperative Group for the Study of Diabetes Prevalence in Rio De Janeiro. *Diabetes Care*. 1996 Jun;19(6):663-666

Oliveira CP, Stefano JT, Cavaleiro AM, Zanella Fortes MA, Vieira SM, Rodrigues Lima VM, *et al*. Association of polymorphisms of glutamate-cystein ligase and microsomal triglyceride transfer protein genes in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010 Feb;25(2):357-361.

Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008 Oct;49(4):608-612.

Pagadala M, Zein CO, McCullough AJ. Predictors of steatohepatitis and advanced fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis*. 2009 Nov;13(4):591-606.

Paolisso G, Tataranni PA, Foley JE, Bogardus C, Howard BV, Ravussin E. A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. *Diabetologia*. 1995 Oct;38(10):1213-1217.

Petta S, Camma C, Di Marco V, Alessi N, Barbaria F, Cabibi D, *et al*. Retinol-binding protein 4: a new marker of virus-induced steatosis in patients infected with hepatitis c virus genotype 1. *Hepatology*. 2008 Jul;48(1):28-37.

Petta S, Muratore C, Craxi A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Dig Liver Dis*. 2009 Sep;41(9):615-625.

Pillai AA, Rinella ME. Non-alcoholic fatty liver disease: is bariatric surgery the answer? *Clin Liver Dis*. 2009 Nov;13(4):689-710.

Pinto HC, Baptista A, Camilo ME, Valente A, Saragoca A, de Moura MC. Nonalcoholic steatohepatitis. Clinicopathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients. *Dig Dis Sci*. 1996 Jan;41(1):172-179.

Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology*. 1990 Jan;11(1):74-80.

Poynard T, Halfon P, Castera L, Charlotte F, Le Bail B, Munteanu M, *et al*. Variability of the area under the receiver operating characteristic curves in the diagnostic evaluation of liver fibrosis markers: impact of biopsy length and fragmentation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Mar 15;25(6):733-739.

Prashanth M, Ganesh HK, Vima MV, John M, Bandgar T, Joshi SR, *et al*. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Assoc Physicians India*. 2009 Mar;57:205-210.

Prati D, Taioli E, Zanella A, Della Torre E, Butelli S, Del Vecchio E, *et al*. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med*. 2002 Jul 2;137(1):1-10.

Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord MK, McCullough AJ, Younossi ZM. Over twenty five years of follow up for a Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Cohort. *Gastroenterology*. 2008;134(4):A-754.

Rafiq N, Younossi ZM. Effects of Weight Loss on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis*. 2008 Nov;28(4):427-433.

Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, *et al*. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2005 Jun;128(7):1898-1906.

Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, *et al*. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology*. 2000 Jun;118(6):1117-1123.

Ratzu V, Giral P, Jacqueminet S, Charlotte F, Hartemann-Heurtier A, Serfaty L, *et al.* Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. *Gastroenterology*. 2008 Jul;135(1):100-110.

Ratzu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, *et al.* Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*. 2006;6:6.

Ratzu V, Poynard T. Hepatocellular Carcinoma. In: Farrell GC, George J, Hall PM, McCullough AJ, editors. *Fatty liver disease: NASH and related disorders*. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing; 2005. p. 263-275.

Ratzu V, Poynard T. [Nonalcoholic fatty liver disease: 30 years research changed NASH]. *Gastroenterol Clin Biol*. 2009 Aug-Sep;33(8-9):850-858.

Ratzu V, Zelber-Sagi S. Pharmacologic therapy of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2009 Nov;13(4):667-688.
Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, *et al.* Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2002 Oct;97(10):2614-2618.

Rinella M, Koppe S, Brunt EM. Pentoxifyllin improves ALT and histology in patients with NASH: a double-blind, placebo-controlled trial. In: *Digestive disease week*. Chicago. 2009.

Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology*. 2009 Mar;49(3):1017-1044.

Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, *et al.* Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008 Dec;40(12):1461-1465.

Roper NA, Bilous RW, Kelly WF, Unwin NC, Connolly VM. Cause-specific mortality in a population with diabetes: South Tees Diabetes Mortality Study. *Diabetes Care*. 2002 Jan;25(1):43-48.

Rozental P, Biava C, Spencer H, Zimmerman HJ. Liver morphology and function tests in obesity and during total starvation. *Am J Dig Dis*. 1967 Feb;12(2):198-208.

Ruhl CE, Everhart JE. Relation of elevated serum alanine aminotransferase activity with iron and antioxidant levels in the United States. *Gastroenterology*. 2003 Jun;124(7):1821-1829.

Runge CF. Economic consequences of the obese. *Diabetes*. 2007 Nov;56(11):2668-2672.

Ryysy L, Hakkinen AM, Goto T, Vehkavaara S, Westerbacka J, Halavaara J, *et al.* Hepatic fat content and insulin action on free fatty acids and glucose metabolism

rather than insulin absorption are associated with insulin requirements during insulin therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2000 May;49(5):749-758.

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):745-750.

Sabate JM, Jouet P, Harnois F, Mechler C, Msika S, Grossin M, *et al*. High prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in patients with morbid obesity: a contributor to severe hepatic steatosis. *Obes Surg*. 2008 Apr;18(4):371-377.

Salles GF, Bloch KV, Cardoso CR. Mortality and predictors of mortality in a cohort of Brazilian type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2004 Jun;27(6):1299-1305.

Sanford NL, Walsh P, Matis C, Baddeley H, Powell LW. Is ultrasonography useful in the assessment of diffuse parenchymal liver disease? *Gastroenterology*. 1985 Jul;89(1):186-191.

Sanyal AJ. The pathogenesis of Nash: Human studies. In: Farrell GC, George J, Hall PM, McCullough AJ, editors. *Fatty liver disease: NASH and related disorders*. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing; 2005. p. 76-90.

Satapathy SK, Sakhuja P, Malhotra V, Sharma BC, Sarin SK. Beneficial effects of pentoxifylline on hepatic steatosis, fibrosis and necroinflammation in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007 May;22(5):634-638.

Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986 Jan 4;292(6512):13-15.

Savransky V, Nanayakkara A, Vivero A, Li J, Bevans S, Smith PL, *et al*. Chronic intermittent hypoxia predisposes to liver injury. *Hepatology*. 2007;45(4):1007-1013.

Schafer S, Kantartzis K, Machann J, Venter C, Niess A, Schick F, *et al*. Lifestyle intervention in individuals with normal versus impaired glucose tolerance. *Eur J Clin Invest*. 2007 Jul;37(7):535-543.

Seth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 1998 Jan;93(1):44-48.

Setji TL, Holland ND, Sanders LL, Pereira KC, Diehl AM, Brown AJ. Nonalcoholic steatohepatitis and nonalcoholic Fatty liver disease in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 May;91(5):1741-1747.

Shen L, Fan JG, Shao Y, Zeng MD, Wang JR, Luo GH, *et al*. Prevalence of nonalcoholic fatty liver among administrative officers in Shanghai: an epidemiological survey. *World J Gastroenterol*. 2003 May;9(5):1106-1110.

Silverman JF, O'Brien KF, Long S, Leggett N, Khazanie PG, Pories WJ, *et al.* Liver pathology in morbidly obese patients with and without diabetes. *Am J Gastroenterol.* 1990 Oct;85(10):1349-1355.

Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *AJR Am J Roentgenol.* 2007 Dec;189(6):W320-323.

Suzuki A, Angulo P, St Sauver J, Muto A, Okada T, Lindor K. Light to moderate alcohol consumption is associated with lower frequency of hypertransaminasemia. *Am J Gastroenterol.* 2007 Sep;102(9):1912-1919.

Suzuki A, Lymp J, Sauver JS, Angulo P, Lindor K. Values and limitations of serum aminotransferases in clinical trials of nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int.* 2006 Dec;26(10):1209-1216.

Syn WK, Choi SS, Diehl AM. Apoptosis and cytokines in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis.* 2009 Nov;13(4):565-580.

Tahan V, Canbakan B, Balci H, Dane F, Akin H, Can G, *et al.* Serum gamma-glutamyltranspeptidase distinguishes non-alcoholic fatty liver disease at high risk. *Hepatogastroenterology.* 2008 Jul-Aug;55(85):1433-1438.

Targher G, Bertolini L, Padovani R, Poli F, Scala L, Tessari R, *et al.* Increased prevalence of cardiovascular disease in Type 2 diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Diabet Med.* 2006 Apr;23(4):403-409.

Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Tessari R, Zenari L, *et al.* Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2007 May;30(5):1212-1218.

Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Lippi G, Day C, *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and proliferative/laser-treated retinopathy in type 2 diabetic patients. *Diabetologia.* 2008a Mar;51(3):444-450.

Targher G, Bertolini L, Scala L, Cigolini M, Zenari L, Falezza G, *et al.* Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007 Sep;17(7):517-524

Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia.* 2008b Nov;51(11):1947-1953.

Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology.* 1995 Dec;22(6):1714-1719.

Tobari M, Hashimoto E, Yatsuji S, Torii N, Shiratori K. Imaging of nonalcoholic steatohepatitis: advantages and pitfalls of ultrasonography and computed tomography. *Intern Med.* 2009;48(10):739-746.

Tsang SW, Ng WF, Wu BP, Chow DA, Li ET, Wong TC. Predictors of fibrosis in Asian patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006 Jan;21(1 Pt 1):116-121.

Underwood Ground KE. Prevalence of fatty liver in healthy male adults accidentally killed. *Aviat Space Environ Med.* 1984 Jan;55(1):59-61.

Uslusoy HS, Nak SG, Gulden M, Biyikli Z. Liver histology according to the presence of metabolic syndrome in nonalcoholic fatty liver disease cases. *World J Gastroenterol.* 2009 Mar 7;15(9):1093-1098.

Uygun A, Kadayifci A, Isik AT, Ozgurtas T, Deveci S, Tuzun A, *et al.* Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004 Mar 1;19(5):537-544.

Verran D, Kusyk T, Painter D, Fisher J, Koorey D, Strasser S, *et al.* Clinical experience gained from the use of 120 steatotic donor livers for orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl.* 2003 May;9(5):500-505.

Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology.* 1990 Nov;12(5):1106-1110.

Westwater JO, Fainer D. Liver impairment in the obese. *Gastroenterology.* 1958 Apr;34(4):686-693.

Weston SR, Leyden W, Murphy R, Bass NM, Bell BP, Manos MM, *et al.* Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease. *Hepatology.* 2005 Feb;41(2):372-379.

Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ, Feldstein AE. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2006 Jul;44(1):27-33.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 2004 May;27(5):1047-1053.

Wilfred de Alwis NM, Day CP. Genetics of alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 2007 Feb;27(1):44-54.

Willner IR, Waters B, Patil SR, Reuben A, Morelli J, Riely CA. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency, and severity of disease. *Am J Gastroenterol.* 2001 Oct;96(10):2957-2961.

- Wong VW, Wong GL, Tsang SW, Hui AY, Chan AW, Choi PC, *et al*. Metabolic and histological features of non-alcoholic fatty liver disease patients with different serum alanine aminotransferase levels. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009 Feb 15;29(4):387-396.
- Woods SC. The endocannabinoid system: mechanisms behind metabolic homeostasis and imbalance. *Am J Med*. 2007 Feb;120(2 Suppl 1):S9-17; discussion S29-32.
- Yajima Y, Ohta K, Narui T, Abe R, Suzuki H, Ohtsuki M. Ultrasonographical diagnosis of fatty liver: significance of the liver-kidney contrast. *Tohoku J Exp Med*. 1983 Jan;139(1):43-50.
- Yatsuji S, Hashimoto E, Tobari M, Taniai M, Tokushige K, Shiratori K. Clinical features and outcomes of cirrhosis due to non-alcoholic steatohepatitis compared with cirrhosis caused by chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Feb;24(2):248-254.
- Yin M, Chen J, Glaser KJ, Talwalkar JA, Ehman RL. Abdominal magnetic resonance elastography. *Top Magn Reson Imaging*. 2009 Apr;20(2):79-87.
- Yokohama S, Yoneda M, Haneda M, Okamoto S, Okada M, Aso K, *et al*. Therapeutic efficacy of an angiotensin II receptor antagonist in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2004 Nov;40(5):1222-1225.
- Yoneda M, Fujita K, Inamori M, Tamano M, Hiriishi H, Nakajima A. Transient elastography in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Gut*. 2007a Sep;56(9):1330-1331.
- Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, *et al*. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol*. 2007b Jul;42(7):573-582.
- Younossi ZM, Gramlich T, Liu YC, Matteoni C, Petrelli M, Goldblum J, *et al*. Nonalcoholic fatty liver disease: assessment of variability in pathologic interpretations. *Mod Pathol*. 1998 Jun;11(6):560-565.
- Younossi ZM, Gramlich T, Matteoni CA, Boparai N, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004 Mar;2(3):262-265.
- Younossi ZM, Jarrar M, Nugent C, Randhawa M, Afendy M, Stepanova M, *et al*. A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Obes Surg*. 2008 Nov;18(11):1430-1437.
- Zamora-Valdes D, Mendez-Sanchez N. Experimental evidence of obstructive sleep apnea syndrome as a second hit accomplice in nonalcoholic steatohepatitis pathogenesis. *Ann Hepatol*. 2007 Oct-Dec;6(4):281-283.

Ziol M, Kettaneh A, Ganne-Carrie N, Barget N, Tengher-Barna I, Beaugrand M. Relationships between fibrosis amounts assessed by morphometry and liver stiffness measurements in chronic hepatitis or steatohepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Nov;21(11):1261-1268.

ANEXOS

Anexo I:

Formulários de coleta de dados

Universidade Federal do Rio de Janeiro – HUCFF

Serviço de Clínica Médica

Nome: _____
 Prontuário: _____
 Data da 1ª consulta: ___/___/_____ Ficha: _____
 Telefone: _____
 Data de nascimento: ___/___/_____ Idade: ____ Sexo: () F () M
 Cor: () branca () preta () parda
 Escolaridade: () analfabeto(a) () ensino fundamental () ensino fundamental incompleto
 () ensino médio () ensino médio incompleto () superior () superior incompleto
 Estado civil: () casado(a) () solteiro(a) () separado(a) () viúvo(a)
 Vínculo empregatício: () do lar () empregado(a) () desempregado(a) () aposentado(a) () informal
 Renda familiar: ____ SMS Número de pessoas na família: _____
 Peso: ____ kg Altura: ____ m Circ. Abdominal: ____ cm Circ. Quadril: ____ cm
 Fumo:
 () nunca fumou
 () fumante, carga tabágica ____ maços/ ano
 () ex-fumante, parou há quantos anos? ____ carga tabágica ____ maços/ ano
 Álcool:
 () não
 () sim, qual bebida? _____ ingestão/dia (ml/dia ou g de álcool/dia) _____ há quantos anos? _____
 () ex-etilista, parou há quanto tempo? ____ ingestão/dia nos que pararam de beber _____
 Capacidade funcional:
 Sobe 1 lance de escadas sem se cansar:
 () não
 () sim
 Faz caminhadas:
 () não
 () sim
 Pratica outros exercícios: Quais? _____
 () não
 () sim
 História de hepatite:
 () não
 () sim
 História de icterícia:
 () não
 () sim
 História de transfusão de sangue ou derivados:
 () não
 () sim
 Início do diabetes (mês/ano): ___/___/_____ Tempo de doença: ____ anos ____ meses

Medicação do diabetes atual e alterações:

Qual?	Dose diária:	Alteração:
<input type="checkbox"/> Apenas dieta		
<input type="checkbox"/> Metformin: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Sulfonilureias: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Glinidas: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Acarbose: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Glitazonas: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Insulina: _____	_____	_____

Alteração na medicação do diabetes:

não

sim

Hipertensão arterial:

não

sim

Ano do diagnóstico: _____

Medicação anti-hipertensiva atual:

Qual?	Dose diária:	Alteração:
<input type="checkbox"/> Diurético: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Betabloqueador: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> IECA: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Antagonista de canal de Ca: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Agonista central: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Vasodilatador periférico: _____	_____	_____

Alteração na medicação anti-hipertensiva:

não

sim

Dislipidemia:

não

sim

Hipercolesterolemia:

não

sim

Hipertrigliceridemia:

não

sim

Medicação para hiperlipidemia:

Qual?	Dose diária:	Alteração:
<input type="checkbox"/> Apenas dieta		
<input type="checkbox"/> Estatina: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Fibrato: _____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Colestiramina: _____	_____	_____

Alteração na medicação hipolipemiante:

não

sim

Doenças associadas:

AAS:

não

sim

Dose diária: _____ mg

Prescrito AAS após avaliação:

- não
 sim

Outras medicações em uso:

_____	Dose diária: _____
_____	Dose diária: _____
_____	Dose diária: _____
_____	Dose diária: _____
_____	Dose diária: _____

Presença de sinais de insuficiência hepática:

- não
 sim

Icterícia:

- não
 sim

Hepatomegalia:

- não
 sim

Esplenomegalia:

- não
 sim

Ascite:

- não
 sim

Presença de circulação colateral:

- não
 sim

Doença coronariana:

- não
 sim

Doença cerebrovascular:

- não
 sim

Doença arterial periférica:

- não
 sim

ICC:

- não
 sim

Retinopatia:

- não
 sim

Nefropatia:

- não
 sim

Neuropatia:

- não
 sim

Disautonomia:

- não
 sim

Escore dos testes clínicos: _____

Exames iniciais:

Sangue	data	valor
Hemoglobina (g/dl)	___/___/___	
Contagem de plaquetas	___/___/___	
Glicemia de jejum (mg/dl)	___/___/___	
Glicemia pós prandial (mg/dl)	___/___/___	
Hemoglobina glicosilada (%)	___/___/___	
Creatinina (mg/dl)	___/___/___	
Ácido úrico (mg/dl)	___/___/___	
Colesterol (mg/dl)	___/___/___	
HDL (mg/dl)	___/___/___	
LDL (mg/dl)	___/___/___	
Triglicerídeos (mg/dl)	___/___/___	
AST (TGO) (UI/ml)	___/___/___	
ALT (TGP) (UI/ml)	___/___/___	
Fosfatase alcalina (UI/ml)	___/___/___	
Gama-GT (UI/ml)	___/___/___	
Proteína total (g/dl)	___/___/___	
Albumina (g/dl)	___/___/___	
Bilirrubina direta (mg/dl)	___/___/___	
Bilirrubina indireta (mg/dl)	___/___/___	
TAP paciente (seg) e (%)	___/___/___	
TAP controle (seg) e (%)	___/___/___	
INR	___/___/___	
Ferro sérico (microg/dl)	___/___/___	
Índice de saturação de transferrina (%)	___/___/___	
Ferritina (ng/ml)	___/___/___	
Volume urinário nas 24 horas (ml)	___/___/___	
Proteinúria (mg/24 horas)	___/___/___	
Microalbuminúria (mg/24 horas)	___/___/___	
Clearance de creatinina (ml/min)	___/___/___	

	2 ^a medida	3 ^a medida
AST (TGO) (UI/ml)		
ALT (TGP) (UI/ml)		

Exame de sangue para soroteca:

 não sim

US abdominal (data): ___/___/___

Esteatose:

 não sim

Fígado reduzido (cirrose):

 não sim

Hipertensão porta:

 não sim

Biópsia hepática:

 não sim

Data da biópsia hepática: ___/___/___ número da lâmina: _____

Esteatose:

não

sim

Esteato-hepatite:

não

sim

Cirrose:

não

sim

Anexo II:

Título do Projeto: Prevalência da Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica em pacientes com Diabetes Mellitus.

Termo de consentimento livre e esclarecido

O Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) está realizando um estudo para avaliar a presença de doença hepática gordurosa não-alcoólica em pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

A doença hepática gordurosa não-alcoólica vem ganhando destaque nos últimos anos e é hoje considerada a doença hepática mais comum em alguns países ocidentais. Esta doença caracteriza-se pelo acúmulo de gordura no fígado, detectada por anormalidades em exames de sangue, à ultrassonografia abdominal ou à biópsia hepática. Apesar de por muitos anos ter sido considerada uma condição benigna, hoje sabemos que a doença hepática gordurosa pode evoluir silenciosamente para cirrose hepática, isto é, sem que os pacientes apresentem quaisquer sintomas.

Como pacientes com diabetes mellitus têm maior possibilidade de apresentarem doença hepática gordurosa, a importância deste estudo é identificar neste grupo de pacientes aqueles com maior risco de progressão para cirrose hepática.

O estudo constará de uma primeira consulta onde o(a) senhor(a) será avaliado(a) pela autora do trabalho e responderá a perguntas sobre suas condições socioeconômicas, doenças e uso de medicamentos, uso de drogas venosas e consumo de álcool. Serão solicitados exames de sangue necessários para o acompanhamento do diabetes e para avaliação de presença de doença hepática, incluindo anticorpos para os vírus de hepatites (Hepatite B e Hepatite C) e HIV.

Será colhida uma segunda amostra do seu sangue para que posteriormente possamos realizar exames de sangue que auxiliam no diagnóstico e determinação do estágio evolutivo da doença hepática gordurosa. Esta amostra do soro será congelada e armazenada porque estes exames ainda não estão disponíveis no Hospital Universitário.

As coletas de sangue serão realizadas por punção periférica da veia do antebraço por profissionais habilitados do laboratório do Hospital Universitário, mas ainda assim podem causar desconforto e hematoma local.

Também será solicitado na consulta inicial uma ultrassonografia abdominal, que é um exame não invasivo para avaliação do fígado, baço e veias abdominais.

Apenas naqueles pacientes com alterações persistentes nos exames de sangue (três medidas consecutivas das enzimas hepáticas), ou com anormalidades à ultrassonografia abdominal que sugeriram a presença de doença hepática, será recomendada investigação diagnóstica adicional com biópsia hepática. Neste caso, o(a) senhor(a) receberá esclarecimento específico dos benefícios e riscos do procedimento e poderá decidir se deseja participar desta próxima etapa do estudo.

Esta pesquisa será feita no ambulatório de diabetes da clínica médica do HUCFF sob a responsabilidade da Dra. Nathalie Carvalho Leite. Em qualquer etapa do estudo o(a) senhor(a) terá acesso ao profissional responsável pelos telefones 2562-2848 ou 9632-0192. Se o(a) senhor(a) tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) - sala 01D-46 - 1 andar, fone 2562-2480 – e-mail: ccp@hucff.ufrj.br.

Sua participação no estudo é de livre e espontânea vontade e sua desistência é possível a qualquer momento. Seu tratamento continuará sendo realizado no ambulatório de diabetes do HUCFF, independentemente de sua participação no trabalho. Seus dados serão confidenciais e quaisquer alterações nos exames laboratoriais serão informadas. Apenas os pesquisadores envolvidos no projeto poderão ter acesso às suas informações pessoais e resultados de exames. Não será permitido acesso a terceiros, garantindo proteção contra qualquer tipo de discriminação ou estigmatização.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira pela sua participação.

Ao término da pesquisa os resultados serão divulgados em publicações científicas. Os dados e materiais biológicos coletados (sangue) serão utilizados apenas para esta pesquisa.

Em caso de qualquer complicação clínica decorrente dos procedimentos realizados durante o estudo o(a) senhor(a) tem direito a tratamento na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Acredito ter sido suficientemente esclarecido(a) a respeito do estudo acima citado através das informações que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com o Dr. _____ , sobre a minha decisão em participar neste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar da pesquisa sobre doença hepática gordurosa não-alcoólica em pacientes com diabetes mellitus e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento nesta Instituição.

Data ___/___/___

Nome/assinatura do paciente

Data ___/___/___

Nome/assinatura do pesquisador

Data ___/___/___

Nome/assinatura do representante legal

Anexo III:**Título do Projeto: Prevalência da Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica em pacientes com Diabetes Mellitus.**

Termo de consentimento livre e esclarecido

O(a) senhor(a) está sendo acompanhado(a) no ambulatório de Diabetes do Serviço de Clínica Médica do HUCFF. O(a) senhor(a) foi submetido(a) a exames de sangue e ultrassonografia abdominal a fim de avaliar a presença de acúmulo anormal de gordura no fígado (ou doença hepática gordurosa não-alcoólica). Seus exames mostraram que o(a) senhor(a) tem excesso de gordura no fígado. Hoje sabemos que a doença hepática gordurosa pode evoluir silenciosamente para cirrose hepática, isto é, sem que os pacientes apresentem quaisquer sintomas. A importância da investigação é identificar os pacientes diabéticos com maior risco de evoluir para cirrose hepática.

A biópsia hepática é o único exame capaz de determinar o prejuízo ao seu fígado provocado pela gordura acumulada. Se, além da gordura, existir inflamação e cicatrização no seu fígado, o(a) senhor(a) precisará de um acompanhamento e tratamento específico para prevenir o aparecimento de cirrose e suas complicações (como, por exemplo, hemorragia digestiva, inchaço na barriga e câncer no fígado).

O procedimento da biópsia percutânea será realizado no HUCFF por profissional experiente e habilitado. Este é o método mais comum e consiste na retirada de um fragmento de 1cm de tecido do seu fígado por uma agulha que é inserida rapidamente pela sua pele, após a anestesia da pele e região embaixo da pele.

O(a) senhor(a) será acompanhado após a realização da biópsia e será liberado somente após algumas horas de repouso e avaliação médica cuidadosa. A biópsia hepática realizada através da pele é um procedimento seguro, com uma taxa de mortalidade menor do que 0,01%. O risco de complicações é baixo; o sintoma mais comum é dor no local da biópsia (ocorre em 1,5% a 3% dos casos) e também pode ocorrer pequeno sangramento no local da biópsia (0,3%-0,5%). Outras complicações possíveis e infrequentes são punção de órgãos próximos e hemorragia abdominal. Também por se tratar da retirada de um pequeno fragmento hepático, pode não se conseguir obter material suficiente para exame.

Esta pesquisa está sendo feita no ambulatório de Diabetes da Clínica Médica do HUCFF, a responsável é a Dra Nathalie Carvalho Leite. Em qualquer dúvida sobre a biópsia, o(a) senhor (a) terá acesso ao profissional responsável pelos telefones: 2562-2848 ou 9632-0192.

Sua participação é de livre e espontânea vontade, e sua desistência pode ocorrer a qualquer momento. Seu tratamento no Ambulatório de Diabetes continuará, independentemente da realização da biópsia. Seus dados são confidenciais e quaisquer alterações nos exames serão informadas.

Acredito ter sido suficientemente esclarecido(a) a respeito da necessidade e dos riscos da biópsia hepática, através das informações que li ou foram lidas para mim. Eu discuti com o Dr _____ sobre a minha decisão em realizá-la. Ficaram claros para mim qual a necessidade e os riscos e desconfortos da biópsia hepática, e também a confidencialidade e garantia de esclarecimentos permanentes. Concordo voluntariamente em realizar a biópsia hepática e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento sem perda de qualquer benefício no meu atendimento nesta Instituição.

Data----/--/-----

nome/assinatura do paciente

Data----/--/-----

nome/assinatura do médico

Data----/--/-----

nome/assinatura do representante legal

Anexo IV:**Cr terios de Kleiner (Kleiner *et al.*, 2005)**

Gradua o de esteatose hep tica

0	Menor que 5% dos hepatócitos
1	De 5 a 33% dos hepatócitos
2	Maior que 33 a 66% dos hepatócitos
3	Acima de 66% dos hepatócitos

Localiza o da esteatose hep tica

0	Zona 3
1	Zona 1
2	Azonal
3	Panacinar

Gradua o de esteatose microvesicular

0	Ausente
1	Presente

Gradua o de inflama o lobular

0	Nenhum foco
1	Menos que 2 focos por campo (200x)
2	De 2 a 4 focos por campo (200x)
3	Acima de 4 focos por campo (200x)

Gradua o de microgranulomas

0	Ausente
1	Presente

Gradua o de lipogranulomas

0	Ausente
1	Presente

Gradua o de inflama o portal

0	Nenhuma ou mínima
1	Maior que mínima

Gradua o de baloniza o

0	Nenhuma
1	Poucas células balonizadas
2	Muitas células/baloniza�o proeminente

Gradua o de corpos acid filos

0	Nenhum ou raros
1	Muitos

Gradua o de macr fagos pigmentados

0	Nenhum ou raros
1	Muitos

Gradua o de megamitoc ndrias

0	Nenhuma ou raras
1	Muitas

Graduação de corpúsculos de Mallory

0	Nenhum ou raros
1	Muitos

Graduação de núcleos glicogenados

0	Nenhum ou raros
1	Muitos

Estágio de fibrose

0	Ausência de fibrose
1	Perisinusoidal ou periportal
1 ^a	Perisinusoidal leve
1b	Perisinusoidal moderada
1c	Portal/Periportal
2	Perisinusoidal e portal/periportal
3	Fibrose em pontes
4	Cirrose

Classificação de Esteato-hepatite

0	Não é esteato-hepatite
1	Esteato-hepatite possível
2	Esteato-hepatite definitiva

Critérios de Brunt (Brunt *et al.*, 1999)

Graduação de esteatose hepática

Grau 0	Ausência de esteatose
Grau 1	De 1 a 33% dos hepatócitos
Grau 2	De 33 a 66% dos hepatócitos
Grau 3	Acima de 66% dos hepatócitos

Graduação da necrose e inflamação na DHGNA

Leve ou grau 1	Esteatose predominantemente macrovesicular envolvendo até 66% da biópsia; hepatócitos balonizados ocasionais na zona 3; escassos linfócitos ou polimorfonucleares intra-acinares; inflamação portal leve ou ausente
Moderada ou grau 2	Esteatose de qualquer grau; balonização de hepatócitos evidente, predominante na zona 3; presença de polimorfonucleares intra-acinares; pode haver fibrose pericelular na zona 3; inflamação crônica portal e intra-acinar presente, leve ou moderada
Intensa ou grau 3	Esteatose panacinar; balonização e desarranjo evidentes, predominante em zona 3; inflamação intra-acinar presente com polimorfonucleares espalhados ou associados com hepatócitos balonizados, com ou sem leve inflamação crônica, inflamação portal crônica leve ou moderada, não intensa

Gradação de fibrose na DHGNA

Estádio 1	Fibrose pericelular ou perisinusoidal na zona 3, distribuídas focal ou extensivamente
Estádio 2	Fibrose pericelular ou perisinusoidal na zona 3, fibrose periportal focal ou extensa
Estádio 3	Fibrose pericelular ou perisinusoidal na zona 3, fibrose portal com fibrose em ponte focal ou extensa
Estádio 4	Cirrose

O critério mínimo para o diagnóstico da esteato-hepatite será o estabelecido por Brunt, ou seja, presença de esteatose e a localização de pelo menos 2 das alterações em zona 3:

- Focos de necroinflamação com infiltrados de polimorfonucleares e/ou mononucleares
- Balonização de hepatócitos com ou sem corpúsculos de Mallory
- Presença de fibrose pericelular e perisinusoidal

Crítérios de Matteoni (Matteoni *et al.*, 1999)

Gradação

Tipo 1. Esteatose.

Tipo 2. Esteatose mais inflamação.

Tipo 3. Esteatose e balonização de hepatócitos.

Tipo 4. Esteatose com fibrose e/ou corpúsculos de Mallory.

Os tipos 3 e 4 são classificados como esteato-hepatite segundo Matteoni.

CLINICAL STUDIES

Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus

Nathalie C. Leite, Gil F. Salles, Antonio L. E. Araujo, Cristiane A. Villela-Nogueira and Claudia R. L. Cardoso

Department of Internal Medicine, University Hospital Clementino Fraga Filho, Medical School, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Keywords

aminotransferases – non-alcoholic fatty liver disease – type-2 diabetes – ultrasonography

Correspondence

Claudia R. L. Cardoso, Rua Cróton 72, Rio de Janeiro, CEP 22750-240, Brazil
 Tel: +55 21 24473577
 Fax: +55 21 25622514
 e-mail: claudiacardoso@hucff.ufrj.br

Received 3 January 2008
 Accepted 30 January 2008

DOI:10.1111/j.1478-3223.2008.01718.x

Abstract

Background/Aims: Diabetic patients have an increased prevalence and severity of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). We aimed to investigate the prevalence and the factors associated with the presence of ultrasonographic NAFLD in type-2 diabetic individuals. **Methods:** In a cross-sectional design study, 180 type-2 diabetic patients were submitted to a complete clinical and laboratory evaluation and abdominal ultrasonography for NAFLD detection and grading. Statistical analysis included bivariate tests, analysis of variance (ANOVA, for increasing severity of steatosis) and multivariate logistic regression. **Results:** The prevalence of ultrasonographic NAFLD was 69.4% [95% confidence interval (CI): 58.3–82.7%]. Patients with NAFLD were more obese, had a higher waist circumference and serum triglyceride and alanine aminotransferase (ALT) levels than those without steatosis. Neither diabetic degenerative complication, nor glycaemic control was associated with liver steatosis. On multivariate analysis, a high serum triglycerides level [> 2.82 mmol/L, odds ratio (OR): 3.7–4.1, 95% CI: 1.2–13.3] and a high-normal ALT level (≥ 40 U/L, OR: 2.5–2.7, 95% CI: 1.2–5.9) were independently associated with hepatic steatosis, together with either the presence of obesity (OR: 7.1, 95% CI: 3.0–17.0) or of increased waist circumference (OR: 4.8, 95% CI: 1.9–12.2). **Conclusions:** Type-2 diabetic patients have a high prevalence of ultrasonographic NAFLD and its presence is associated with obesity, mainly abdominal, hypertriglyceridaemia and high-normal ALT levels. Non-alcoholic fatty liver disease in diabetic patients may develop and progress independent of the diabetes progression itself.

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is emerging as the most common cause of chronic liver disease worldwide (1), probably related to the increasing incidence of obesity and type-2 diabetes (2). The spectrum of NAFLD ranges from simple steatosis to non-alcoholic steatohepatitis, and to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (3, 4). Recently, it has been recognized that NAFLD represents an important burden of disease for patients with type-2 diabetes mellitus. Individuals with type-2 diabetes not only have a high prevalence of NAFLD, up to 70% (5), but also seem to have an increased severity of disease (6–8). NAFLD seems to be linked to insulin resistance and to the metabolic syndrome, and may precede type-2 diabetes development and cardiovascular disease (9).

Nevertheless, there are few studies addressing specifically NAFLD in diabetic patients, most with a small number of individuals or in selected populations, and investigating the presence of NAFLD by the prevalence of elevated aminotransferase levels, which is generally a poor marker of NAFLD (5, 10). The largest study with diabetic patients has been reported recently (5). Hence, new data are still required in order to better clarify the prevalence and clinical spectrum of NAFLD in this specific population. It remains important to define which factors are associated with the presence of NAFLD in diabetic patients and, particularly, whether the presence and severity of NAFLD are related to diabetic metabolic status or to the occurrence of chronic micro- and macrovascular degenerative complications. In this regard, it has been suggested recently that

cardiovascular disease may be associated with NAFLD in diabetic patients, independent of other traditional cardiovascular risk factors (5, 11).

Therefore, the objective of this study was to investigate the prevalence of NAFLD, based on ultrasonographic diagnosis, and to determine which clinical and laboratory variables are associated with its presence in a type-2 diabetic population.

Patients and methods**Patients**

This was a cross-sectional study within a cohort of 400 type-2 diabetic patients enrolled from August 2004 to March 2007 in the outpatient clinic of a tertiary care university hospital. Exclusion criteria to enter the cohort were a body mass index (BMI) > 40 kg/m², serum creatinine ≥ 180 μ mol/L or the presence of any serious concomitant disease, such as a pulmonary disease or cancer. All type-2 diabetic patients from this cohort with ages up to 65 years were evaluated to enter the study (224 subjects). Exclusion criteria for this study were a current daily alcohol ingestion ≥ 20 g, confirmed by family members (16 patients); viral hepatitis, confirmed by serology (26 patients, 25 infected with hepatitis C and one infected with hepatitis B virus); presence of other causes of liver disease (one patient with biliary obstruction); and the use of well-known hepatotoxic drugs (two patients using methotrexate and

prednisone); resulting in a total of 180 patients who compounded the study group. All patients gave written informed consent and the local Ethics Committee previously approved the study protocol. All patients were submitted to a standard protocol that included a complete clinical and laboratory examination. BMI was calculated as weight (in kilograms) divided by squared height (in metres). Obesity was defined by a BMI ≥ 30 kg/m². Waist circumference (at the nearest half centimetre) was measured at the midpoint between the lower border of the rib cage and the iliac crest, and categorized according to National Cholesterol Education Program/Adult Treatment Panel III (12) at > 102 cm in men and > 88 cm in women. Arterial hypertension was diagnosed if the mean systolic ≥ 140 mmHg or diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg or if antihypertensive drugs had been prescribed.

Coronary heart disease was diagnosed by clinical or electrocardiographic criteria, or by positive ischaemic stress tests. Cerebrovascular disease was diagnosed by history and physical examination and peripheral arterial disease by systolic ankle-brachial index < 0.9 . Diabetic retinopathy was evaluated by an ophthalmologist. The diagnosis of diabetic nephropathy needed at least two urinary albumin excretion rates between 30 and 300 mg/24 h (microalbuminuria stage), proteinuria > 0.5 g/24 h (macroproteinuria stage) or confirmed reduction of the glomerular filtration rate (renal failure stage: creatinine clearance < 1 ml/s or serum creatinine > 130 μ mol/L). Peripheral neuropathy was ascertained by clinical examination (knee and ankle reflex activities, feet sensation with the Semmes-Weinstein monofilament and vibration, using a 128-Hz tuning fork).

Laboratory evaluation

Laboratory evaluation was performed using standard automated methods (Dade Behring DimensionR). It included fasting and post-prandial glycaemia, serum creatinine, glycated haemoglobin (by liquid chromatography, intra-assay and inter-assay variation coefficients of 0.5–1.1% and 1.2–2.6% respectively), ferritin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), γ -glutamyl transpeptidase, alkaline phosphatase, bilirubin, albumin, prothrombin time, platelet count, total cholesterol, high-density and low-density lipoprotein cholesterol and triglycerides. Urinary albumin excretion rate (by immune-nephelometry, intra-assay and interassay variation coefficients of 4.3 and 4.4% respectively) proteinuria and creatinine were evaluated in sterile 24-h urine collection. Aminotransferases were repeated three times at 4-week intervals and to be considered abnormally elevated it had to be above the upper limit of normal (65 U/L for ALT, intra-assay and interassay variation coefficients of 1.5–5.0 and 2.7–7.7%, and 37 U/L for AST, intra-assay and interassay variation coefficients of 1.5–5.0 and 2.1–5.2% respectively) on at least two occasions. Alternatively, they were also considered to be elevated if above $0.6 \times$ the upper limit of normal (39 U/L for ALT and 22 U/L for AST), as reported for renal failure patients (13). Absolute aminotransferase values were the mean of the three measurements.

Abdominal ultrasonography

All patients underwent an abdominal ultrasound examination performed by a single-blinded experienced observer using the same equipment (Siemens G50, 3.5-MHz transducer; Siemens, Munich, Germany). The liver was assessed for size, contour, echogenicity, structure and posterior beam attenuation. The

diagnosis of steatosis was established based on liver brightness (evident sonographic contrast between hepatic and renal parenchyma), together with high posterior attenuation and reduced vessel wall and diaphragm distinction (14). The severity of steatosis was graded as follows (14): slight (diffuse increase in fine echoes in liver parenchyma), moderate (diffuse increase in fine echoes with impaired visualization of the intrahepatic vessel borders and diaphragm), and severe (diffuse increase in fine echoes with non-visualization of the intrahepatic vessel borders and diaphragm).

Statistical analysis

All data were analysed using *SPSS* 13.0. Continuous variables are presented as means and standard deviations if normally distributed or as medians and interquartile ranges if asymmetrically distributed. Normality of data distribution was tested using the Kolmogorov–Smirnov test. Bivariate comparisons between patients with and without ultrasonographic liver steatosis were performed by χ^2 or Fisher's exact tests for categorical variables and by an unpaired *t*-test or a Mann–Whitney test for continuous data. Analysis of variance (ANOVA) was also used for comparisons of subgroups with increasing severity of hepatic steatosis (none, slight, moderate and severe) using Dunnett's *post hoc* tests (with the subgroup without steatosis as the reference category). A multivariate logistic regression analysis was carried out to investigate the clinical and laboratory variables independently associated with the presence of NAFLD on ultrasound scanning. All variables with a *P*-value ≤ 0.20 in bivariate analysis were included in a multivariate forward stepwise procedure. Despite being non-significant, age, gender, use of metformin and the presence of diabetic nephropathy were forced into the logistic models because of potential confounding. Two distinct models were fitted: one including the waist circumference among the independent covariates and the other using BMI. Odds ratios (ORs) with their 95% confidence intervals (CIs) were calculated for each independent covariate, and a probability (*P*) value < 0.05 was regarded as significant.

Results

Baseline characteristics

One hundred and twenty-five diabetic patients had ultrasonographic findings of NAFLD (prevalence: 69.4, 95 CI: 58.3–82.7%) and 55 had normal liver ultrasonographic examinations. Among those with ultrasonographic NAFLD, 40 subjects (32%) had slight, 63 (50.4%) moderate and 14 (11.2%) had severe steatosis, and eight individuals (6.4%) had ultrasonographic findings suggestive of chronic hepatic disease that prevented quantitative analysis of steatosis. The baseline characteristics of patients with and without NAFLD on ultrasonography are shown on Table 1. Patients with NAFLD had larger waist circumferences, higher BMI and were more frequently obese than those without steatosis. They also had a lower prevalence of diabetic nephropathy, used metformin more frequently and had higher serum triglyceride levels than those without steatosis. Stratified analysis of different stages of nephropathy (microalbuminuria, macroproteinuria and renal failure) in relation to the presence of liver steatosis showed that only the patients with renal failure had a lower prevalence of steatosis (30.8%) than those without nephropathy (74.2%).

Table 1. Baseline characteristics of patients with and without hepatic steatosis on ultrasonography

Variables	Patients without NAFLD (n = 55)	Patients with NAFLD (n = 125)	P-value
Male gender	17 (30.9%)	37 (29.6%)	0.86
Age (years)	54.3 (8.1)	55.6 (7.1)	0.41
Smoking habit			
Never	31 (56.4%)	76 (60.8%)	0.66
Current	5 (9.1%)	7 (5.6%)	
Past	19 (34.5%)	42 (33.6%)	
Physical inactivity	45 (81.8%)	97 (77.6%)	0.53
Waist circumference (cm)	95.3 (7.7)	104.6 (12.2)	< 0.001
Waist circumference > 102 cm (men) or > 88 cm (women)	31 (56.4%)	101 (80.8%)	0.001
Body mass index (kg/m ²)	27.0 (3.6)	31.3 (5.4)	< 0.001
Obesity	10 (18.2%)	72 (57.6%)	< 0.001
Diabetes duration (years)	8.0 (3.0–20.0)	7.0 (3.0–14.5)	0.34
Arterial hypertension	43 (78.2%)	106 (84.8%)	0.28
Microvascular complications			
Retinopathy	25 (45.4%)	40 (32.0%)	0.22
Nephropathy	22 (40.0%)	27 (21.6%)	0.009
Neuropathy	14 (25.5%)	29 (23.2%)	0.74
Macrovascular complications			
Coronary artery disease	5 (9.1%)	21 (16.8%)	0.18
Cerebrovascular disease	3 (5.5%)	12 (9.6%)	0.35
Peripheral arterial disease	12 (21.8%)	18 (14.4%)	0.22
Diabetes treatment			
Metformin	38 (69.1%)	111 (88.8%)	0.001
Sulphonylureas	19 (34.5%)	49 (39.2%)	0.55
Insulin	27 (49.1%)	59 (47.2%)	0.82
Statins	41 (74.5%)	95 (76.0%)	0.77
Laboratory variables			
Fasting glucose (mmol/L)	7.5 (6.1–8.6)	8.0 (6.7–11.2)	0.17
Post-prandial glucose (mmol/L)	10.7 (4.9)	10.7 (4.7)	0.97
Glycated haemoglobin (%)	7.3 (6.2–8.6)	7.6 (6.6–8.9)	0.46
Total cholesterol (mmol/L)	5.20 (1.35)	5.27 (1.19)	0.36
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.11 (0.32)	1.06 (0.30)	0.26
LDL-cholesterol (mmol/L)	3.33 (1.15)	3.21 (1.06)	0.92
Triglycerides (mmol/L)	1.28 (0.98–2.20)	1.74 (1.12–2.70)	0.019
Creatinine (µmol/L)	70 (60–90)	70 (60–90)	0.69
Urinary protein (g/24 h)	0.12 (0.08–0.35)	0.13 (0.09–0.21)	0.92
Microalbuminuria (mg/24 h)	13.2 (7.0–49.0)	11.3 (7.1–23.3)	0.29
Creatinine clearance (ml/s)	1.53 (0.58)	1.70 (0.60)	0.10

Values are mean (standard deviation) for normally distributed data, median (interquartile range) for asymmetrically distributed data or absolute number (proportion) for categorical data.

HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease.

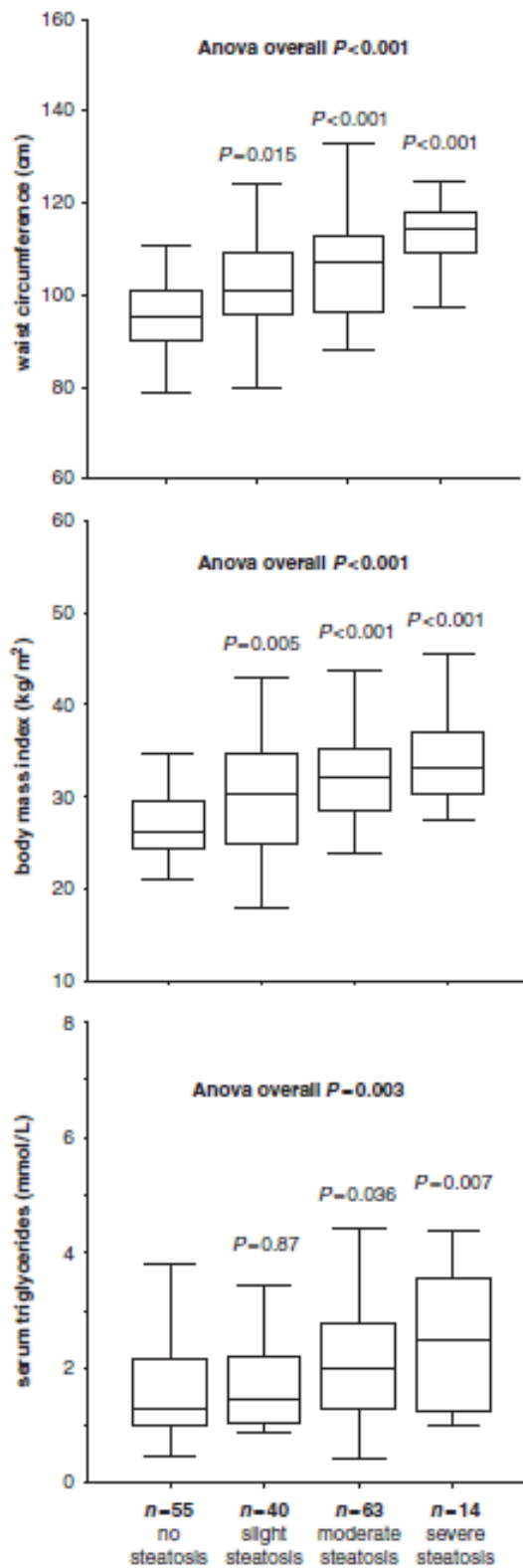
However, these patients were also leaner and had a lower waist circumference than those without nephropathy or those with less severe stages of diabetic nephropathy. Similarly, patients who did not use metformin had a lower waist circumference and BMI and a higher prevalence of renal failure than those not using metformin. Moreover, when adjusted for BMI and waist circumference, both associations between diabetic nephropathy and metformin use with the presence of hepatic steatosis completely disappeared.

Analysis of variance showed a clear trend towards increasing values of waist circumference, BMI and serum triglycerides according to increasing severity of ultrasonographic liver steatosis. Waist circumference and BMI were significantly higher in diabetic patients with any grade of steatosis in comparison with those without steatosis, whereas triglycerides were significantly higher in diabetic patients with ultrasonographic moder-

ate or severe steatosis in relation to those without steatosis in *post hoc* analysis (Fig. 1).

Liver function tests

Liver function tests of diabetic patients with and without ultrasonographic hepatic steatosis are presented on Table 2. Patients with NAFLD had higher ALT levels than those without NAFLD, although when dichotomized at the upper limit of normality, no difference was observed between subjects with and without liver steatosis. Otherwise, when ALT was dichotomized at 39 U/L, a significantly higher prevalence of high-normal range ALT was observed in patients with NAFLD. Nevertheless, even at this cut-off value, ALT did not show a good predictive performance for being proposed as a screening test for ultrasonographic NAFLD detection (sensitivity: 52%,



specificity: 76%, positive predictive value: 81%, negative predictive value: 41%). The other liver function tests did not show any differences between patients with and without liver steatosis. ANOVA of aminotransferase levels stratified for increasing grades of steatosis severity shows that only patients with severe steatosis had significantly higher aminotransferase levels than those without ultrasonographic liver steatosis (Fig. 2).

Multivariate analysis

Table 3 shows the results of two models of multivariate logistic regression analysis. In the first model, an ALT level > 39 U/L, obesity and triglyceride level > 2.82 mmol/L were independently associated with the presence of ultrasonographic NAFLD. Obesity was the variable with the strongest association; obese patients had a seven-fold increased risk of having NAFLD. High-normal ALT and high triglyceride levels increased 2.7-fold and 4-fold, respectively, the chance of having steatosis on ultrasound. In the second model, ALT and triglycerides remained independently associated with liver steatosis and increased waist circumference (> 102 cm in men or > 88 cm in women) substituted obesity, conferring a nearly fivefold increased risk of having ultrasonographic hepatic steatosis.

Discussion

This cross-sectional study has three main findings. Firstly, that the prevalence of ultrasonographic NAFLD is very high in type-2 diabetic subjects and its related factors are mainly obesity, or increased abdominal fat distribution, and hypertriglyceridaemia. Secondly, although an ALT level within the high-normal range was independently associated with hepatic steatosis, it confirms the poor predictive performance of all laboratory liver tests to detect ultrasonographic NAFLD. And third, this study was not able to show any relationship between the presence of ultrasonographic NAFLD and any diabetes-related characteristic, neither metabolic control parameters, nor chronic micro- or macrovascular degenerative complications, suggesting that NAFLD may run an independent evolution of the diabetes course itself.

A very high prevalence of NAFLD (69.4%) based on ultrasound features was observed in our study. This figure is identical to that described in another study with diabetic patients that found a prevalence of 69.5% on ultrasound (5). These numbers corroborate the fact that diabetic patients have a higher prevalence of NAFLD than the general population, which is recognized to be between 16 and 30% in different countries (15, 16). Type-2 diabetes may thus be considered to be a leading cause of liver disease in the 21st century. Although other studies have also shown a high prevalence of NAFLD in diabetic patients, most of them were performed in selected populations such as morbidly obese patients who may be submitted to bariatric surgery or in whom NAFLD was diagnosed by abnormal aminotransferase levels (10, 17, 18). Obesity, increased waist circumference and dyslipidaemia, especially hypertriglyceridaemia, are well-known predictive factors for the presence of NAFLD in non-diabetic populations

Fig. 1. Mean values of waist circumference (top), body mass index (middle) and serum triglycerides (bottom) according to increasing severity of ultrasonographic liver steatosis. *P*-values are for analysis of variance's *post hoc* comparisons with the subgroup without steatosis (the reference category).

Table 2 Baseline liver function tests of patients with and without hepatic steatosis on ultrasonography

Variables	Patients without NAFLD (n = 55)	Patients with NAFLD (n = 125)	P-value
Alanine aminotransferase (U/L)	36 (31–40)	39 (33–49)	0.015
Elevated ALT (> 65 U/L)	3 (5.5%)	11 (8.8%)	0.44
ALT > 39 U/L	16 (29.1%)	61 (48.8%)	0.014
Aspartate aminotransferase (U/L)	22 (16–26)	20 (17–26)	0.85
Elevated AST (> 37 U/L)	5 (9.1%)	16 (12.8%)	0.47
AST > 22 U/L	26 (47.3%)	49 (39.2%)	0.48
AST/ALT ratio > 1.00	3 (5.5%)	11 (8.8%)	0.44
Alkaline phosphatase (U/L)	81 (59–99)	82 (65–108)	0.23
Elevated alkaline phosphatase	5 (9.1%)	12 (9.6%)	0.77
γ -glutamyl transpeptidase (U/L)	35 (25–50)	40 (29–59)	0.14
Elevated γ -glutamyl transpeptidase	5 (9.1%)	15 (12.0%)	0.79
Ferritin (μ g/L)	135 (65–260)	135 (75–250)	0.74
Elevated ferritin	4 (7.3%)	14 (11.2%)	0.59
Bilirubin (μ mol/L)	7 (5–10)	7 (5–10)	0.31
Albumin (g/L)	40 (36–42)	40 (37–43)	0.60
Prothrombin (NR)	1.0 (1.0–1.0)	1.0 (1.0–1.0)	0.97
Platelets ($\times 10^9/L$)	252 (83)	253 (74)	0.94
Low platelet count	5 (9.1%)	6 (4.8%)	0.33

Values are mean (standard deviation) for normally-distributed data, median (interquartile range) for asymmetrically distributed data or absolute numbers (proportion) for categorical data.

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; INR, international normalized ratio; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease.

(19, 20), probably by reflecting insulin resistance and the metabolic syndrome. We demonstrated that these factors are determinants of the presence of NAFLD also in type-2 diabetic patients.

It is known that liver enzymes may be normal in a great proportion of patients with NAFLD and thus are insensitive for the diagnosis of this disease (21–23). In addition, the full spectrum of the disease may be present among patients with normal ALT levels, which therefore cannot be used to exclude the presence of advanced liver disease (22). Our study provides further evidence that liver enzymes in the normal range provide little diagnostic value when assessing patients with NAFLD. Patients with NAFLD in our study had normal or, at maximum, high-normal ALT and AST levels. This could represent an upward drift in the normal range, but treatment with antidiabetic medications could also have produced normalization of the aminotransferase levels despite pre-existing fatty liver disease. Indeed, almost all (84%) the patients in our study were already using metformin at the time of enrollment. Metformin is a biguanide that improves hepatic insulin resistance by downregulating hepatic glucose production and diverting fatty acids from triglyceride production to mitochondrial oxidation. In open trials (24, 25), treatment with metformin led to a decrease in liver enzyme levels and to a higher rate of aminotransferase normalization compared with the control groups. Thus, the use of metformin might have contributed to the major prevalence of normal liver enzyme values. Notwithstanding, in this study, the aminotransferase levels were significantly increased in subjects with severe steatosis in comparison with those without ultrasonographic NAFLD. Furthermore, a high-normal ALT level (≥ 40 U/L) independently increased nearly three-fold the chance of having ultrasonographic NAFLD and may be considered to be a surrogate marker for liver steatosis in diabetic patients. However, even at this lower cut-off value, the ALT level does not have a predictive performance good enough to be recommended as a screening test for NAFLD detection.

The most relevant of our results is the apparent absence of a relationship between any diabetes-related characteristic and the presence of ultrasonographic NAFLD. Neither any parameter of metabolic control or diabetes duration nor any microvascular or macrovascular chronic degenerative complication was demonstrated to be independently associated with NAFLD occurrence. Increasing evidence suggests that patients with diabetes are at a particularly high risk for presenting NAFLD, especially in its more severe progressive form (26, 27), although the pathophysiological mechanisms underlying the great prevalence of NAFLD and its worse outcome in diabetic patients still remain under debate. Besides insulin resistance, NAFLD and type-2 diabetes share important pathophysiological features: chronic low-grade inflammation, increased oxidative stress and upregulation of hepatotoxic cytokines (28–30). Hence, it would be plausible to find associations between diabetes-related variables and the presence of NAFLD. Regarding macrovascular disease, in this study, patients with NAFLD had a non-significantly higher prevalence of coronary heart disease (16.8 vs. 9.1%) and cerebrovascular disease (9.6 vs. 5.5%), but a non-significantly lower prevalence of peripheral arterial disease (14.4 vs. 21.8%) than subjects without NAFLD. Hence, overall, we were unable to demonstrate any association between the presence of macrovascular disease and NAFLD. To date, only one previous study demonstrated the association between macrovascular disease and NAFLD, independent of the traditional cardiovascular risk factors and components of the metabolic syndrome (5). Maybe the difference lies in the sample size of the studied population; with a smaller number of patients we could not find such a relationship. Indeed, in a previous study with a smaller population, the same investigators were also unable to show independent associations between NAFLD and diabetic macrovascular disease (11). In relation to diabetic microvascular complications, we showed, in bivariate analysis, that the presence of diabetic nephropathy, particularly its renal failure stage, seemed to be a protective factor for the presence of NAFLD, but this association completely

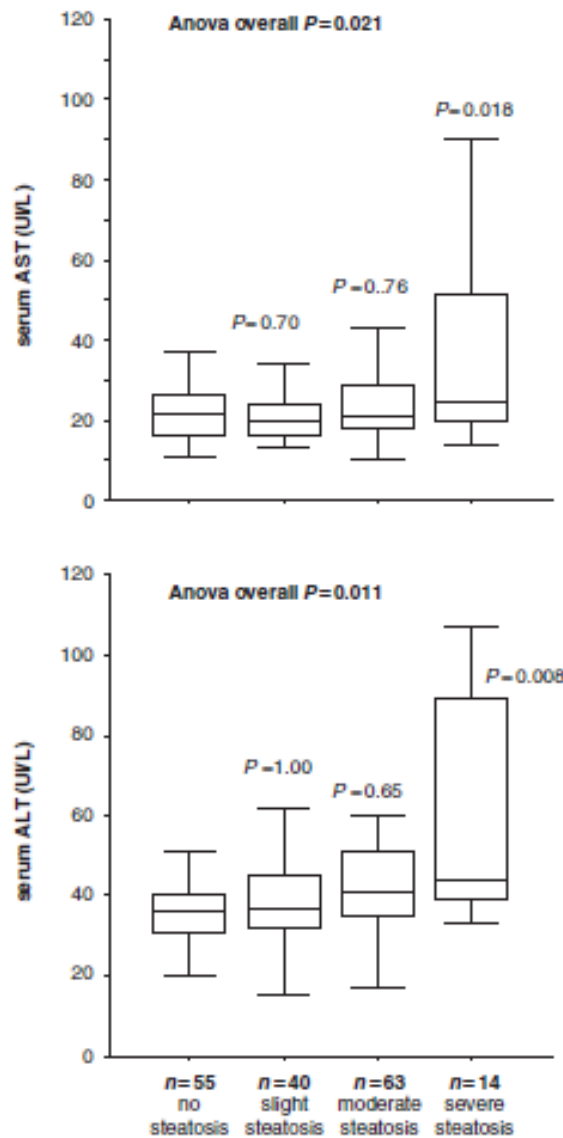


Fig. 2. Mean values of alanine aminotransferase (top) and aspartate aminotransferase (bottom) according to increasing severity of ultrasonographic liver steatosis. *P*-values are for analysis of variance's *post hoc* comparisons with the subgroup without steatosis (the reference category).

disappeared after a djustment for BMI and waist circumference. Also, patients with NAFLD had a non-significantly lower prevalence of retinopathy (32.0 vs. 45.4%) and an equal prevalence of neuropathy (23.2 vs. 25.5%) than those without NAFLD. These findings are in contrast with a recent published report from the same population (31), which showed associations between NAFLD and advanced nephropathy and retinopathy. Differences in the studied population (we did not include individuals with advanced renal failure and considered microalbuminuric patients to be having diabetic nephropathy), as well as in sample size, may, at least in part, explain these

Table 3. Multivariate logistic regression for independently associated variables with the presence of hepatic steatosis on ultrasonography (the dependent variable)

Covariates	Odds ratio	95% CI	<i>P</i> -value
Model A*			
Alanine aminotransferase > 39 U/L	2.67	1.20–5.95	0.016
Obesity	7.14	3.00–17.01	< 0.001
Triglycerides > 2.82 mmol/L	4.07	1.24–13.38	0.021
Model B*			
Alanine aminotransferase > 39 U/L	2.54	1.16–5.58	0.020
Abdominal circumference > 102 cm (men) or > 88 cm (women)	4.76	1.86–12.16	0.001
Triglycerides > 2.82 mmol/L	3.72	1.20–11.54	0.023

*Both models further adjusted for age, gender, use of metformin and presence of diabetic nephropathy. CI, confidence interval.

opposing findings. On the other hand, if the lack of association between diabetes-related parameters and NAFLD presence is really true, it may suggest that the development of NAFLD in type-2 diabetic patients may follow a progressive course independent of the diabetes itself. If this is the case, NAFLD and type-2 diabetes should be considered parallel entities with independent progressions, although some therapeutic interventions directed towards diabetes control, such as weight loss and insulin-sensitizing drugs, also have the potential to affect NAFLD progression favourably. Another important question not yet answered is whether long-term metabolic control would be capable of improving NAFLD development and progression in a manner similar to that demonstrated for micro- and macrovascular degenerative complications (32).

Some limitations of this study are important to note. Firstly, its cross-sectional design precludes any causal and temporal inferences about the relationships between the presence of NAFLD and diabetes parameters. Secondly, the diagnosis of NAFLD was made by ultrasound imaging and exclusion of other causes of chronic liver disease, but was not confirmed by liver biopsy. Otherwise, ultrasonography is the most used method of diagnosing NAFLD on a clinical basis and has an optimal sensitivity and specificity in detecting liver steatosis when there is at least 30% fat on the liver, although it does not distinguish among different stages of NAFLD (14). Another flaw is that the intra-observer reproducibility of the method was not assessed, albeit previous studies have reported it to be substantial (κ coefficient between 0.63 and 0.77) both for steatosis pattern and for severity (14). Nevertheless, in spite of these limitations, ultrasonography is considered to be the best cost-effective method for NAFLD diagnosis (14). Finally, because we excluded patients older than 65 years, our results may not apply to older diabetic subjects, although NAFLD is known to occur most commonly between the fifth and the sixth decades of life (16, 33).

In conclusion, our data indicate that NAFLD is highly prevalent in type-2 diabetic patients and that obesity, mainly abdominal, hypertriglyceridaemia and ALT at a high-normal level, are independently associated with an increased chance of having NAFLD. The presence of NAFLD was not associated

with glycaemic control, diabetes duration or with the presence of micro- and macrovascular complications. NAFLD in diabetic patients may develop and progress independent of the diabetes progression itself. Longitudinal studies in diabetic populations are needed to evaluate the relations between NAFLD and metabolic control, and the occurrence of micro- and macrovascular degenerative complications and whether its course can be modified by better metabolic control.

Acknowledgements

Drs G. F. Salles and C. R. L. Cardoso received research grants from the Brazilian National Research Council (CNPq).

References

- Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; **122**: 1649–57.
- Adams LA, Angulo P. Recent concepts in non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Med* 2005; **22**: 1129–33.
- Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2004; **24**: 3–20.
- Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, et al. Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 2002; **35**: 1485–93.
- Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2007; **30**: 1213–8.
- Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 2005; **42**: 132–8.
- Younossi ZM, Gramlich T, Matteoni CA, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; **2**: 262–5.
- Angulo P, Hui JM, Marchesini G, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007; **45**: 846–54.
- Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is a novel predictor of cardiovascular disease. *World J Gastroenterol* 2007; **13**: 1579–84.
- Erbey JR, Silberman C, Lydick E. Prevalence of abnormal serum alanine aminotransferase levels in obese patients and patients with type 2 diabetes. *Am J Med* 2000; **109**: 588–90.
- Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Increased prevalence of cardiovascular disease in Type 2 diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Med* 2006; **23**: 403–9.
- National Cholesterol Education Program. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; **285**: 2486–97.
- Hung KY, Lee KC, Yen CJ, et al. Revised cutoff values of serum aminotransferase in detecting viral hepatitis among CAPD patients: experience from Taiwan, an endemic area for hepatitis B. *Nephrol Dial Transplant* 1997; **12**: 180–3.
- Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; **123**: 745–50.
- Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, et al. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the diomysos nutrition and liver study. *Hepatology* 2005; **42**: 44–52.
- Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol* 2003; **98**: 960–7.
- Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol* 2006; **45**: 600–6.
- Lima ML, Mourão SC, Diniz MT, Leite VH. Hepatic histopathology of patients with morbid obesity submitted to gastric bypass. *Obes Surg* 2005; **15**: 661–9.
- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; **346**: 1221–31.
- Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; **37**: 917–23.
- Ong JP, Elariny H, Collantes R, et al. Predictors of nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2005; **15**: 310–5.
- Mofrad P, Contos MJ, Haque M, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003; **37**: 1286–92.
- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; **40**: 1387–95.
- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, et al. Metformin in non-alcoholic steatohepatitis. *Lancet* 2001; **358**: 893–4.
- Nair S, Diehl AM, Wiseman M, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2005; **100**: 1082–90.
- Gupte P, Amarapurkar D, Agal S, et al. Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; **19**: 854–8.
- Haukeland JW, Konopski Z, Linnestad P, et al. Abnormal glucose tolerance is a predictor of steatohepatitis and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; **40**: 1469–77.
- Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust E, et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2001; **34**: 738–44.
- Davi G, Ciabattoni G, Consoli A, et al. In vivo formation of 8-iso-prostaglandin f2alpha and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation* 1999; **99**: 224–9.
- Davi G, Guagnano MT, Ciabattoni G, et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA* 2002; **288**: 2008–14.
- Targher G, Bertolini L, Rodella S, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and proliferative/laser-treated retinopathy in type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 2008; **51**: 444–50.
- Stratton IM, Adler AI, Neil AW, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35). *BMJ* 2000; **321**: 405–19.
- Chen CH, Huang MH, Yang JC, et al. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population of taiwan: metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in non-obese adults. *J Clin Gastroenterol* 2006; **40**: 745–52.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)