



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



VALÉRIA FERREIRA DE ALMEIDA E BORGES

**Correlação entre ultrassonografia com Doppler e biópsia
na gradação da esteatose hepática não alcoólica**

Uberlândia

Maio/2010

VALÉRIA FERREIRA DE ALMEIDA E BORGES

Correlação entre ultrassonografia com Doppler e biópsia na gradação da esteatose hepática não alcoólica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Angélica Lemos Debs Diniz
FAMED - UFU

Co-orientadora: Profa. Dra. Helma Pinchemel Cotrim
FAMED - UFBA

Uberlândia

Maio/2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- B732c Borges, Valéria Ferreira de Almeida e, 1973-
 Correlação entre ultrassonografia com Doppler e biópsia na
 gradação de esteatose hepática não alcoólica [manuscrito] / Valéria
 Ferreira de Almeida e Borges. – 2010.
 55 f.
- Orientadora: Angélica Lemos Debs Diniz.
 Co-orientadora: Helma Pinchemel Cotrim.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
 Inclui bibliografia.
1. Fígado gorduroso - Teses. 2. Fígado gorduroso - Imagem ultra-
 sônica - Teses. 3. Doppler, Ultra-sonografia. I. Diniz, Angélica Lemos
 Debs. II. Cotrim, Helma Pinchemel. III. Universidade Federal de
 Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV.
 Título.

CDU: 616.36-003.826



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



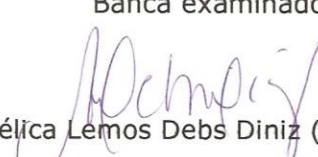
VALÉRIA FERREIRA DE ALMEIDA E BORGES

**Correlação entre ultrassonografia com Doppler e biópsia na
gradação da esteatose hepática não alcoólica**

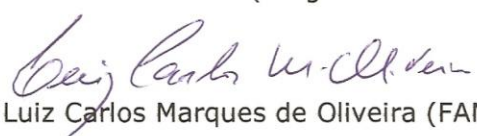
Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

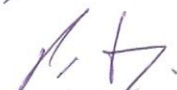
Uberlândia, 14 de maio de 2010.

Banca examinadora:


Profa. Dra. Angélica Lemos Debs Diniz (FAMED-UFU) (Presidente)


Prof. Dr. Luiz Antonio Bailão (Diagnosis – Ribeirão Preto)


Prof. Dr. Luiz Carlos Marques de Oliveira (FAMED-UFU)


Prof. Dr. Paulo Tannus Jorge (FAMED-UFU)

*Dedico esta dissertação à minha irmã,
Lizandra Ferreira de Almeida e Borges,
meu principal estímulo para
dar início ao mestrado
e para finalizá-lo.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Nestor Barbosa de Andrade, fonte de conhecimento e de inspiração, sempre empenhado na evolução contínua da gastroenterologia, pela idealização do ambulatório de fígado gorduroso.

À Profa. Dra. Angélica Lemos Debs Diniz, que realizou todos os exames ultrassonográficos deste estudo, com o padrão que lhe é característico, pela gentileza de ter-me aceitado como orientanda, pela dedicação, pela paciência, pela disponibilidade, por compartilhar o conhecimento, pelo apoio e pela amizade.

À Profa. Dra. Helma Pinchemel Cotrim por ter aceitado ser co-orientadora deste estudo com disposição em reunir-se conosco pessoalmente e também à distância, por ter me oferecido segurança e por ser um modelo profissional para mim.

Aos pacientes do ambulatório de fígado gorduroso do Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) que despojados de qualquer outro interesse permitiram a realização deste estudo e também aos voluntários do grupo controle que gentilmente dispensaram seu tempo e boa vontade.

Ao colega e amigo Haroldo Luis Oliva Gomes Rocha, muito obrigada!

À Profa. Eliana Chaves Salomão pela presteza no estudo histológico, ponto essencial desta dissertação. Agradeço também ao residente da patologia do HC-UFU Frederico Chaves Salomão por ter me auxiliado e também aos colaboradores do Serviço de Patologia do HC-UFU.

Ao Prof. Dr. Kyoshi Hashiba por ter me estimulado ao desenvolvimento do trabalho científico.

Ao Prof. Dr. Ademir Rocha (*in memoriam*) por ter reconhecido em mim a capacidade para a docência e me impulsionado.

Aos Serviços de Cirurgia, Endocrinologia, Gastroenterologia, Medicina Interna, Moléstias Infecciosas e Ultrassonografia, do HC-UFU, por terem colaborado para a realização deste estudo.

Aos ex-residentes da gastroenterologia, do HC-UFU, Bruno Chaves Salomão e Juliana Marques Drigo, e aos atuais residentes, Fabiana Simões Batista, Márcio Henrique Alves e Mirela Rebouças Fernandes de Lima, pessoas muito especiais, às quais agradeço muito, pois sem sua contribuição este estudo não seria possível.

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique Martins pela seriedade, ética e empenho na coordenação do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde (PGCS) da UFU.

Aos Profs. Drs. Miguel Tannus e Paulo Tannus Jorge pelas aulas inesquecíveis e inspiradoras da PGCS.

Às colegas Heloísa Ribeiro Hubaide e Heloísa Arantes Porto Doca pela amizade e pelo apoio.

Ao Prof. Luis Siqueira Filho, quem me incentivou à gastroenterologia, por tantas vezes em que foi um “pai” para mim.

Aos pacientes, aos colegas Caíto e Isabel Machado Fleury Guedes e aos colaboradores da Gastroclínica por terem compreendido minha ausência e me auxiliado.

À Profa. Eliane Junqueira, por todas as leituras, releituras e revisões, muito obrigada!

Ao Dr. Gerson Diniz Júnior, que de maneira especial participou da minha formação de endoscopista, pela inestimável contribuição para este estudo.

Ao colega Renato Hugues Atique Cláudio pela formatação do *software* para coleta dos dados.

À Profa. Dra Mônica Sopelete pelo que me guiou a descobrir sobre a curva “ROC”.

Ao Prof. Dr. Rogério Melo Costa Pinto pelo curso de Bioestatística da PGCS e por todas as análises deste estudo.

Às colaboradoras das bibliotecas da UFU, Maria Madalena Barbosa Puccinelli e Ieda Virgínia Ribeiro Machado, pelo carinho.

Aos colegas da PGCS Washington Carvalho, Flávia Messias, Talita Martinez, Thaisa Alvim, Renata Martins, Luiz Duarte Ulhôa Rocha, Deyse Mainenti, Gabriela Venturini, Poliana Resende, Carolina Guimarães, Marcos Campos, Helena Paro, Marcos Alvinair, Adilson Faion, Ricardo Santos e Salustiano Araújo, pela companhia nas aulas, exercícios e grupos de estudo.

À Dra. Ilcéa Sônia Maria Andrade Borba Marquez, muito obrigada!

Aos colaboradores do ambulatório central “Amélio Marques”, Elenice Luiza Alves Ribeiro, Ana Carolina, Francinete Otaviano, Paulo e Clésio; do Serviço de ultrassonografia, Henriqueta Maria de Freitas e a todos do Serviço de Endoscopia do HC-UFU, pela disposição em nos auxiliar.

À secretária da PGCS Gisele de Melo Rodrigues, sempre tão gentil.

Ao Prof. Dr. Bailão Luiz Antonio, principal disseminador de conhecimento em ultrassonografia neste país, por ter acolhido o convite para a banca de defesa e tanto contribuído para o texto final.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Marques de Oliveira, com quem muito aprendi durante monitoria e residência, pelo empenho na banca de qualificação e por ter aceitado o convite para a defesa.

Ao Dr. Túlio Augusto Alves Macedo pelo que acrescentou durante a minha qualificação.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*Aos meus pais Clóvis e Emília (in memorian),
às minhas irmãs Lizandra e Maurícia,
aos avós Dalva e Manoel,
ao José Humberto,
à prima Natalice
aos tios Vicente, Ezael, Guilly, João, Fátima, Walter, Sidney e Júnior,
e ao Luppércyo.*

Se quiser ser feliz por uma hora... tire uma soneca;
Se quiser ser feliz por um dia... vá pescar;
Se quiser ser feliz por um ano... acerte na loteria;
Se quiser ser feliz por toda a vida... ajude alguém!

Provérbio chinês adaptado

RESUMO

A esteatose hepática não alcoólica é comum e frequentemente descoberta à ultrassonografia (USG). A gradação da esteatose por USG convencional é subjetiva e sujeita à variabilidade inter e intra-observador. A biópsia hepática é o método diagnóstico padrão, havendo, porém, controvérsias sobre sua indicação. É necessária, para a prática clínica, a quantificação não invasiva, objetiva e reprodutível da esteatose. O objetivo deste estudo foi avaliar a correlação entre a razão hepatorrenal (RHR), o índice venoso portal (IVP), o padrão de onda de velocidade de fluxo (OVF) da veia hepática direita à USG com Doppler e a biópsia na gradação da esteatose hepática não alcoólica. USG com Doppler foi realizada em 82 voluntários entre os quais 42, com doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), foram submetidos à biópsia. Os demais 40, sem esteatose à USG e sem fatores risco para DHGNA foram incluídos como controles. A ecogenicidade hepática e renal foram mensuradas por meio do histograma da intensidade dos ecos à USG em modo brilho e a RHR calculada à partir da divisão da amplitude do histograma hepático pela renal. O IVP foi calculado subtraindo-se o pico mínimo de velocidade portal do pico máximo e dividindo-se pelo pico máximo. A OVF da veia hepática direita foi classificada em monofásica, bifásica e trifásica. Os espécimes obtidos por biópsia hepática por agulha foram corados com Hematoxilina-Eosina e Tricrômio de Masson e classificados em esteatose discreta (até 33% dos hepatócitos infiltrados por gordura), moderada (de 33 a 66%) e acentuada (mais de 66%). A fibrose e a inflamação foram classificadas segundo sua intensidade e localização no ácino hepático. A correlação entre a RHR e o grau de esteatose à biópsia foi positiva e significativa ($r = 0,80$, $P < 0,01$). O ponto de corte da $RHR \geq 1,24$ apresentou sensibilidade de 92,7%, especificidade de 92,5% e acurácia de 92,6%. As médias e desvios padrão da RHR foram, respectivamente, nos subgrupos: controle $1,09 \pm 0,13$; esteatose discreta $1,46 \pm 0,24$; moderada $1,52 \pm 0,27$ e acentuada $2,04 \pm 0,31$. As médias da RHR foram diferentes entre si ($P < 0,01$), exceto entre os subgrupos de esteatose discreta e moderada. O IVP apresentou correlação inversa e significativa com o grau de esteatose à biópsia ($r = -0,74$, $P < 0,01$). A média e o desvio padrão do IVP no grupo controle foi $0,34 \pm 0,08$ e no doente $0,20 \pm 0,07$ ($P < 0,01$), caindo progressivamente com o aumento do grau de esteatose, porém sem discriminar com significância os subgrupos com esteatose. A distribuição do padrão da OVF da veia hepática direita foi predominantemente trifásico nos controles e no subgrupo com esteatose discreta enquanto o padrão monofásico foi mais frequente na esteatose acentuada ($P < 0,01$). Porém, a distribuição da OVF da veia hepática direita não mostrou diferença significativa entre os subgrupos de doentes. Neste estudo, a RHR apresentou-se como melhor parâmetro ultrassonográfico para gradação da esteatose hepática em pacientes com DHGNA.

Palavras-chave: *fígado gorduroso. esteatose hepática. ultrassonografia. Doppler. biópsia hepática.*

ABSTRACT

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is common and widespread diagnosed by ultrasound (US). Steatosis grading by conventional US is subjective and presents great interobserver and intraobserver variability. Liver biopsy has been considered the gold standard for the diagnosis of NAFLD, but there are controversies about its indication. A non-invasive, objective and reproducible quantification of steatosis is necessary for clinical practice. The aim of this study was to assess the correlation between sonographic hepatorenal ratio (HRR), portal vein pulsatility index (VPI) and right hepatic vein pattern with liver biopsy for gradation of nonalcoholic steatosis. Ultrasound and Doppler US were performed in 82 subjects, among which 42, with NAFLD, also underwent liver biopsy. Forty normal volunteers were included as control group. The echogenicity of the hepatic parenchyma and right kidney cortex were measured using the histogram echo intensity and the hepatorenal ratio (HRR) was derived. The VPI was calculated as maximum velocity at minimum velocity divided by maximum velocity. The waveform of right hepatic vein was classified in monophasic, biphasic or triphasic. The specimens obtained through needle biopsy was stained by hematoxylin-eosin and Masson's Trichrome and classified as mild (up to 33% of the hepatocytes infiltrated by fat droplets), moderate (from 33 to 66%) and severe (over 66% of fatty infiltration in hepatocytes). The inflammatory infiltrate was discriminate as mild, moderate and severe intensity. The fibrosis was described according to location in the hepatic acinus, aspect and intensity. A significant correlation was found between histologic steatosis and HRR ($r=0.80$, $P<0.01$). The cutoff point of HRR presented sensitivity of 92.7%, specificity of 92.5% and accuracy of 92.6%. The mean and standard deviation in subgroups were: control 1.09 ± 0.13 ; mild 1.46 ± 0.24 ; moderate 1.52 ± 0.27 and severe 2.04 ± 0.31 . The means of HRR were different among themselves, except between the mild and moderate subgroups. The VPI presented inverse and significant correlation with steatosis degree at biopsy ($r=-0.74$ $P<0.01$). The mean and standard deviation of VPI in control group was 0.34 ± 0.08 and in steatosis group was 0.20 ± 0.07 ($P<0.01$), dropping progressively according to the increase in steatosis degree. However, the VPI did not discriminate the steatosis subgroups. The Doppler waveform pattern of the right hepatic vein was predominantly triphasic in control and mild subgroup while the monophasic pattern was more frequent in severe steatosis ($P<0.01$). However, the distribution of Doppler waveform pattern of the right hepatic vein did not show significant differences among mild, moderate and severe steatosis groups. In this study, Hepatorenal sonographic ratio was the best sonographic parameter for gradation of steatosis in patients with NAFLD.

Keywords: *fatty liver; hepatic steatosis; ultrasound; Doppler sonography; liver biopsy.*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG – Ácidos graxos

ATP III - *Adult Treatment Panel III*

CC – Circunferência da cintura

DHA - Doença hepática alcoólica

DHGNA – Doença hepática gordurosa não alcoólica

DM 2 – Diabetes *mellitus* tipo 2

EENA – esteatoepatite não alcoólica

FAN – Fator antinuclear

HC-UFU – Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

HDL – *High density lipoprotein*

HOMA - IR - *Homeostasis Model Assessment for insulin resistance*

IC – Intervalo de confiança

IMC – Índice de massa corporal

IVP – Índice venoso portal

NAFLD – *Nonalcoholic fatty liver disease*

NASH – *Nonalcoholic steatohepatitis*

NCEP-- *National Cholesterol Education Program* -

OVF - Onda de velocidade do fluxo

RCQ – Razão cintura/quadril

RI - Resistência à insulina

RHR- Razão hepatorrenal

UFU – Universidade Federal de Uberlândia

USG – Ultrassonografia

VHC - Vírus da hepatite C

VLDL - Very low-density lipoprotein

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fisiopatologia da formação da esteatose hepática	1
Figura 2- Biópsia hepática analisada em grande aumento (40X) à esquerda e em pequeno aumento (4X) à direita, corada por Hematoxilina-Eosina, mostrando esteatose discreta (esquerda) e acentuada (direita).	4
Figura 3 - Fluxograma da inclusão de sujeitos da pesquisa	18
Figura 4 - Imagem ultrassonográfica coronal obtida para a comparação entre o fígado e o rim.	22
Figura 5 – À direita, o Doppler portal mostrando nítida pulsatilidade da veia porta (índice venoso portal de 0,47) e à esquerda baixa pulsatilidade (índice venoso portal de 0,18).....	23
Figura 6 - Padrão de fluxo na veia hepática ao Doppler. À esquerda o padrão trifásico, no centro bifásico e à direita o padrão monofásico.	24
Figura 7 – Gráfico <i>box-plot</i> da razão hepatorenal (RHR) de acordo com o grau de esteatose à histologia. A linha horizontal dividindo cada box representa a média. Os valores descritos referem-se aos <i>outliers</i> . As chaves de associação expressam a diferença estatística entre os grupos.	31
Figura 8 – Gráfico da curva <i>receiver operating characteristic</i> (ROC) da sensibilidade plotada contra 1-especificidade da razão hepatorenal para diagnóstico da esteatose à biópsia.	32

Figura 9 – Grau de infiltração gordurosa baseada na histologia. Gráfico *box-plot* do índice venoso portal (IVP) de acordo com o grau de esteatose. Os limites superior e inferior de cada box representam o quartil superior e inferior, enquanto a linha horizontal, dividindo cada box, a mediana. As barras horizontais representam o percentil 10 e o percentil 90. 33

Figura 10 - Gráfico da curva receiver operating characteristic (ROC) da sensibilidade plotada contra 1- especificidade do índice venoso portal (IVP) para diagnóstico da esteatose à biópsia. 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características clínicas e laboratoriais dos grupos com esteatose e controle expressas em média $\pm$ desvio padrão exceto para as variáveis categóricas, expressas, quando indicado, em frequências absoluta e percentual.....	28
Tabela 2 – Razão hepatorrenal, expressa em média, desvio padrão e intervalo de confiança (IC) de acordo com o grau de esteatose à biópsia	30
Tabela 3 - Valores do índice de pulsatilidade venosa portal expressos como média, desvio padrão e intervalo de confiança (IC) para a média de cada grupo	34
Tabela 4 - Correlação de Spearman do grau de esteatose, inflamação e fibrose com o índice venoso portal (IVP).....	35
Tabela 5 - Distribuição do padrão de fluxo da veia hepática direita ao Doppler, nos grupos controle e com esteatose à biópsia, expressas em frequências absoluta e percentual.....	36
Tabela 6 - Características e resultados parciais dos principais estudos disponíveis na literatura que utilizaram a razão hepatorrenal para graduar a esteatose hepática em comparação com este trabalho.....	39

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	Conceito e Epidemiologia	1
1.1.1.	Prevalência no Brasil	3
1.2.	A Biópsia Hepática	3
1.2.1.	Diagnósticos diferenciais.....	5
1.3.	A resistência insulínica	6
1.4.	Papel da Ultrassonografia no Diagnóstico da Esteatose Hepática	7
1.5.	JUSTIFICATIVA.....	13
2.	OBJETIVOS	15
2.1.	Geral.....	15
2.2.	Específico	15
3.	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	16
3.1.	Considerações Éticas	16
3.2.	Casuística	16
3.2.1.	Critérios de inclusão.....	17
3.2.2.	Critérios de exclusão	17
3.3.	Métodos	18
3.3.1.	Desenho observacional	18
3.3.2.	Avaliação clínica	19
3.3.3.	Provas laboratoriais	20

3.4.	Avaliação Ultrassonográfica.....	21
3.4.1.	Razão hepatorrenal.....	22
3.4.2.	Avaliação do índice de pulsatilidade venosa portal	23
3.4.3.	Avaliação do padrão de fluxo na veia hepática.....	24
3.5.	Avaliação Histológica.....	25
3.5.1.	Caracterização do perfil histopatológico hepático	25
3.6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
4.	RESULTADOS	27
4.1.	Caracterização clínica dos doentes e controles.....	27
4.2.	Avaliação Histológica.....	29
4.3.	Avaliação Ultrassonográfica.....	30
4.3.1.	Razão hepatorrenal.....	30
4.3.2.	Doppler da veia porta.....	33
4.3.3.	Doppler da veia hepática	36
5.	Discussão	37
6.	Conclusões.....	42
	Referências bibliográficas	43
	ANEXOS	54
	Anexo A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	54
	Anexo B - Protocolo de avaliação histológica.....	55

1. INTRODUÇÃO

1.1. Conceito e Epidemiologia

A esteatose é definida quimicamente como conteúdo hepático de triglicérides maior que 5% do volume hepático ou do peso do fígado (HOYUMPA, GREENE, DUNN et al., 1975) ou histologicamente quando 5% ou mais dos hepatócitos contêm triglicérides (KLEINER, BRUNT, VAN NATTA et al., 2005).

A esteatose se desenvolve quando a oferta de ácidos graxos (AG) para o fígado (absorção e síntese com conseqüente esterificação para triglicérides) é maior que a taxa de exportação (oxidação e secreção). Assim, a quantidade de triglicérides presente nos hepatócitos representa uma interação entre absorção hepática de AG livres oriundos do plasma, liberados pela hidrólise de triglicérides do tecido adiposo e do sangue circulante; síntese *de novo* de AG (lipogênese *de novo*); oxidação de AG; e exportação de AG do very low-density lipoprotein (VLDL) (FABBRINI, SULLIVAN, KLEIN, 2010).

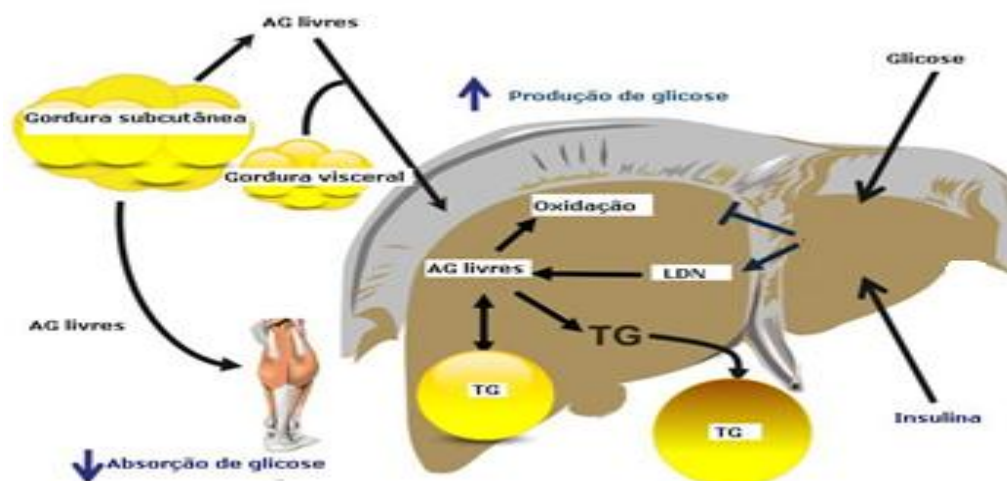


Figura 1 - Fisiopatologia da formação da esteatose hepática

Fonte: adaptado de FABBRINI, SULLIVAN, KLEIN et al., 2010

TG: triglicérides; AG: ácidos graxos; LDN: lipogênese "de novo".

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) se relaciona diretamente com a síndrome metabólica e foi descrita por Ludwig e colaboradores (1980), em 20 mulheres obesas e diabéticas, com achados histológicos semelhantes aos da doença hepática alcoólica (DHA), sem história de ingestão significativa de bebidas alcoólicas.

Antes da década de 80, pesquisadores documentaram esteatose em pacientes obesos submetidos à biópsia hepática antes ou após cirurgia de "bypass" jejunoileal (MAXWELL; SANDERSON; BUTLER et al., 1977). Desde então, o interesse por esta doença cresceu exponencialmente o que se traduz pelo número elevado e crescente de publicações científicas (CHARLTON, 2008).

Embora os achados histológicos da DHGNA possam se apresentar semelhantes aos observados na DHA, por definição, esta doença ocorre em pacientes sem consumo abusivo de álcool, ou seja, inferior a 70 gramas de álcool por semana para mulheres e 140 g/semana se homens (GEORGE e FARRELL, 2005).

A esteatose é um achado obrigatório para o diagnóstico da DHGNA e o diagnóstico nem sempre é feito porque a maioria dos pacientes é assintomática e menos de 50% têm enzimas hepáticas elevadas (CLARK, BRANCATI e DIEHL, 2003).

A DHGNA é a doença hepática crônica mais comum nos Estados Unidos (LAZO e CLARK, 2008). Os estudos mostram resultados diferentes em relação à prevalência da DHGNA, de acordo com o sexo, faixa etária e etnia, variando em 10 a 30% da população na maioria das publicações (BROWNING, SZCZEPANIAK, DOBBINS et al., 2004). A prevalência de esteatose alcança de 57% a 74% dos pacientes com obesidade mórbida (LAZO e CLARK, 2008), 9,6% de crianças e adolescentes com idade entre 2 e 19 anos e 22% a 55% das crianças obesas (SCHWIMMER, DEUTSCH, KAHEN et al., 2006).

1.1.1. Prevalência no Brasil

O Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, por meio do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, apontou que 38,8 milhões de pessoas com 20 anos ou mais de idade estavam acima do peso, o que significava 40,6% da população total do país. E dentro deste grupo, 10,5 milhões dos brasileiros estavam obesos (BRASIL, 2008). O estudo baseado em ultrassonografia abdominal realizado na cidade de São Paulo, por Parise e cols. (2003), encontrou uma prevalência de 19,2%. Em um estudo realizado em escolas da cidade de Salvador, obesidade central foi encontrada em 11,05% e DHGNA foi encontrada em 2,3% de 1801 adolescentes assintomáticos avaliados (ROCHA, COTRIM, BITENCOURT et al., 2009).

Porém a obesidade consiste, em termos gerais, em um estado de excesso de massa tecidual adiposa, e não necessariamente somente aumento do peso (FABBRINI, SULLIVAN e KLEIN, 2010).

1.2. A Biópsia Hepática

A DHGNA compreende um espectro histológico que vai desde a esteatose isolada passando pela esteatoepatite, progressão para fibrose, cirrose e até o carcinoma hepatocelular (MATTEONI, YOUNOSSI, GRAMLICH et al., 1999; RATZIU; BONYHAY; DI MARTINO et al., 2002). A biópsia hepática é determinante na caracterização destes diferentes espectros da DHGNA. É um procedimento que, além de confirmar a suspeita clínica, fornece informação quanto à intensidade da inflamação e da fibrose, além de avaliar a coexistência com outras doenças. Entretanto, mesmo diante do diagnóstico histológico, é importante que se considere o contexto clínico no qual a doença ocorre e a fisiopatologia do processo (BRUNT, 2009)

O principal quadro morfológico da DHGNA é a esteatose na sua forma macrovesicular, que se caracteriza pela presença de vacúolos claros e grandes no citoplasma dos hepatócitos que rechaçam o núcleo para a periferia da célula. Na maioria dos casos, a deposição de lipídios predomina nos hepatócitos da zona 3 do ácino (área centrolobular). Em casos graves pode comprometer todo o lóbulo (figura 2) (FREITAS e COTRIM, 2006; BRUNT, 2009)

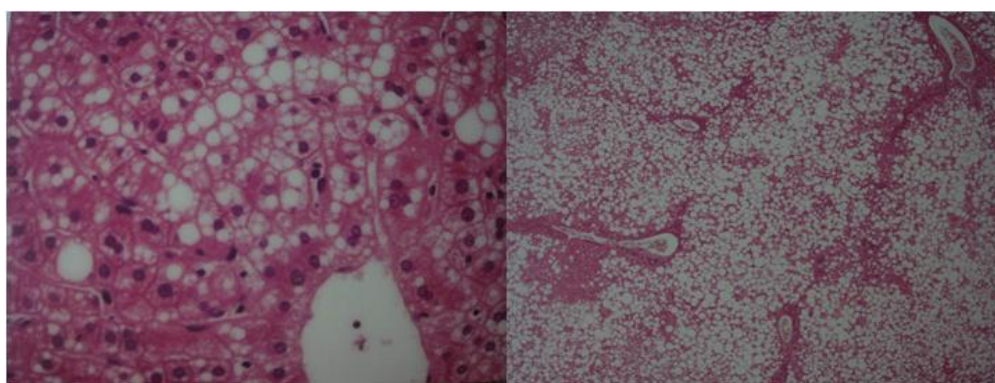


Figura 2- Biópsia hepática analisada em grande aumento (40X) à esquerda e em pequeno aumento (4X) à direita, corada por Hematoxilina-Eosina, mostrando esteatose discreta (esquerda) e acentuada (direita).

Fonte: FREITAS e COTRIM, 2006.

A biópsia hepática atualmente é o método diagnóstico padrão, porém com limitações: procedimento invasivo que impõe riscos, sujeito a erro amostral, variabilidade inter-observador e avaliação não dinâmica (RATZIU, CHARLOTTE, HEUTIER, et al., 2005). Estas limitações têm estimulado a procura de métodos não invasivos para avaliação da esteatose, da inflamação e da fibrose na DHGNA (SAADEH, YOUNOSSI, REMER et al., 2002; WIECKOWSKA e FELDSTEIN, 2008).

Uma variedade de métodos, incluindo marcadores séricos, exames de imagem como a ultrassonografia (USG), tomografia computadorizada, ressonância magnética e avaliação da elasticidade hepática por elastografia tem sido propostos para avaliação não invasiva da esteatose e da fibrose (LUPSOR e BADEA, 2005; WIECKOWSKA e FELDSTEIN, 2008).

1.2.1. Diagnósticos diferenciais

Só é possível considerar DHGNA se não houver histórico de uso de álcool ou se a quantidade ingerida for insuficiente para causar a esteatose. Há controvérsias na literatura com relação à quantidade segura de ingestão alcoólica. Recentemente, os Institutos de Saúde dos Estados Unidos, sessão de pesquisa clínica em DHGNA/esteatoepatite não alcoólica (EENA), definiram que um consumo inferior a 140 gramas de álcool por semana para homens e inferior a 70 gramas por semana para mulheres seria seguro (GEORGE e FARRELL, 2005).

Na doença alcoólica, numerosos corpúsculos hialinos de Mallory com proeminente infiltrado neutrofílico, colestase canalicular, esteatose microvesicular e necrose hialina esclerosante são mais frequentes (EDMONDSON, PETERS, REYNOLDS et al., 1963; LEVITSKY e MAILLIARD, 2004; BRUNT, 2009).

A associação entre a DHGNA e a hepatite crônica C pode ocorrer. Esteatose foi encontrada em cerca de 50% dos casos de hepatite crônica pelo vírus da hepatite C (VHC) (ONG, YOUNOSSI, SPEER et al., 2001), especialmente em pacientes com o genótipo 3 (MONTÓ, ALONZO, WATSON et al., 2002). O efeito citopático do vírus pode ser em parte responsável pelo acúmulo de triglicérides no fígado (POWELL, JONSSON e CLOUSTON, 2005) ou, ainda, ser um fator de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina (HUI, SUD, FARRELL et al., 2003). Nesses casos, a esteatose é geralmente leve, predomina em zona 1 ou é azonal. De uma maneira geral é possível distinguir a associação de DHGNA com outras doenças hepáticas. A presença de agregados linfóides, atividade periportal e corpos apoptóticos são dados que favorecem o diagnóstico de hepatite crônica pelo VHC, enquanto que a balonização e a fibrose pericelular apontam para a esteatoepatite (POWELL, JONSSON e CLOUSTON, 2005; PEREIRA, COTRIM, FREITAS et al., 2006).

A positividade do anticorpo antinuclear em títulos elevados tem sido encontrada em pacientes com EENA. Contudo, as biópsias não mostram alterações de hepatite autoimune, e os pacientes não se favorecem com a corticoterapia. A ausência de inflamação portal proeminente, de numerosos plasmócitos e de intensa atividade necroinflamatória distingue a EENA da hepatite autoimune (COTLER, KANJI, KESHAVARZIAN et al., 2004).

A hemocromatose hereditária é caracterizada pelo depósito mais intenso de ferro nos hepatócitos que predominam na região periportal e pode cursar com a presença de esteatose à histologia em cerca de 40% dos casos (POWELL, ALI, CLOUSTON et al., 2005). Já na EENA, o depósito de ferro quando ocorre, é geralmente leve, sem localização predominante, também sendo encontrado em células sinusoidais (YOUNOSSI, GRAMLICH, BACON et al., 1999; FARGION, MATTIOLI, FRACANZANI et al., 2001)

A doença de Wilson e a deficiência de alfa-1-antitripsina também são causas de hepatopatias que podem cursar com esteatose em que a avaliação laboratorial facilita o diagnóstico diferencial (POWELL; JONSSON e CLOUSTON, 2005)

1.3. A resistência insulínica

Está bem estabelecido que o desenvolvimento da DHGNA ocorra por fluxo excessivo de ácidos graxos livres oriundos de um tecido adiposo disfuncional ou resistente à insulina causando deposição ectópica de gordura no fígado. A resistência insulínica (RI) é a principal causa e está centralmente relacionada à DHGNA. Os pacientes portadores de obesidade e diabetes mellitus tipo 2 (DM2) são os mais frequentemente acometidos (CUSI, 2009).

Nos casos em que o DM2 ainda não foi definido, ou que a resistência insulínica não é tão clara, o índice de HOMA – IR (*homeostasis model assessment for insulin resistance*) pode ser bastante útil (GELONEZE e TAMBASCIA, 2006). O índice de HOMA-IR é um modelo matemático que prediz a resistência insulínica pela medida da glicemia e da insulina em jejum (TURNER, HOLMAN, MATTHEWS et al., 1979) com boa correlação com o método do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, considerado padrão na medida da RI.

As críticas no que diz respeito ao uso do HOMA-IR para o diagnóstico da RI na DHGNA são que as medidas são feitas em jejum, quando os tecidos independentes da ação da insulina é que estão captando glicose; a resistência não é uniforme no fígado e nos tecidos periféricos; medidas tecnicamente inadequadas podem sofrer influência da pró-insulina e o nível de corte ainda não está bem estabelecido (GELONEZE e TAMBASCIA, 2006).

1.4. Papel da Ultrassonografia no Diagnóstico da Esteatose Hepática

A ultrassonografia é a modalidade de imagem mais frequentemente indicada no diagnóstico e avaliação da esteatose hepática por tratar-se de um método não invasivo, amplamente disponível e de baixo custo (SAADEH, YOUNOSSI, REMER et al., 2002; HAMAGUCHI, KOJIMA, ITOH, 2007; CHARATCHAROENWITTHAYA e LINDOR, 2007).

A ecogenicidade, ou brilho, depende do grau de espalhamento do feixe de som pelo tecido. A deposição de gordura aumenta este espalhamento. Conseqüentemente, um fígado gorduroso espalha mais o feixe do que um fígado não gorduroso e aparece hiperecogênico. O fígado “brilhante” é característico da esteatose hepática (TAYLOR, RIELY, HAMMERS et al., 1986; VALLS, LANNACCONNE, ALBA et al., 2006). Porém não há uma ecogenicidade absoluta que indique especificamente tratar-se de um fígado com acúmulo intracelular difuso de inclusões de gordura.

Então, a comparação da ecogenicidade é feita com outras estruturas viscerais que não infiltram gordura no parênquima como os rins ou o baço (OSAWA e MORI, 1996).

A gordura, além de refletir o feixe de som, também o absorve e o atenua. A associação da elevada atenuação e reflexão sonora causam uma baixa transmissão deste através do tecido hepático gorduroso resultando em diminuição da ecogenicidade em campos mais profundos, ou seja, em atenuação acústica com conseqüente perda da definição do diafragma. Como resultado da combinação de reflexão do feixe acústico, absorção e atenuação, a aparência da gordura hepática tende a ser branda e incharacterística com uma visibilização subótima das estruturas intra-hepáticas como os vasos sanguíneos (CHARATCHAROENWITTHAYA e LINDOR, 2007).

Com base nestas considerações, os critérios sonográficos para o diagnóstico de esteatose incluem hiperecogenicidade; atenuação do feixe sonoro, visibilização limitada do diafragma e vasos intra-hepáticos. Com estes critérios, a sensibilidade e a especificidade da USG na detecção da esteatose são menores que o desejado com variações entre os autores e conforme a população estudada. Estudos anteriores mostraram que a USG tem sensibilidade de 60-94% e especificidade de 66-95% na detecção da esteatose na população geral (FOSTER, DEWBURY, GRIFFITH, 1980; SAVERYMUTTU, JOSEPH, MAXWELL, 1986; CHARATCHAROENWITTHAYA e LINDOR, 2007). Portanto, nota-se grande amplitude na taxa de detecção da esteatose pelo método ultrassonográfico bidimensional usado na rotina. Na maioria destes estudos, a biópsia hepática foi utilizada como padrão ouro. Segundo alguns autores, especificidade do ultrassom pode alcançar até 100% quando outras doenças hepáticas, uso de drogas ou álcool são excluídas (HAMAGUCHI, KOJIMA, ITOH, 2007).

Um ponto frágil inerente à USG é que outros fatores além da deposição de gordura poderiam afetar a ecogenicidade e atenuação do feixe acústico. O tecido adiposo subcutâneo atenua o feixe sonoro e

obscurece a imagem do fígado, reduzindo a sensibilidade e especificidade do método na detecção da esteatose hepática em indivíduos obesos. Os índices de detecção da esteatose pela USG mais baixos são aqueles descritos em populações de obesos mórbidos (MOTTIN, MORETTO, PADOIN et al., 2004; DE MOURA ALMEIDA, COTRIM, BARBOSA et al., 2008).

A USG tem limitações também em pacientes com pequenas quantidades de depósito de gordura hepática com sensibilidade de 55% naqueles com menos de 20% dos hepatócitos com esteatose à histologia (NEEDLEMAN, KURTZ, RIFKIN et al., 1986; RYAN, JOHNSON, GERMIN et al., 2002).

A fibrose hepática pode aumentar a ecogenicidade do fígado em um grau similar à acumulação de gordura. Há estudos que questionaram se a USG distingue com acurácia esteatose de fibrose com o argumento de que a fibrose e a esteatose, na maioria dos casos, ocorreriam concomitantemente e que o componente fibrótico produziria aumento da ecogenicidade do fígado gorduroso mais do que a esteatose propriamente (TAYLOR, GORELICK, ROSENFELD et al., 1981). Por outro lado em um estudo em que 30 de um total de 33 pacientes apresentavam esteatose pura à biópsia, sem fibrose, a USG mostrou aumento da ecogenicidade hepática (SAVERYMUTTU, JOSEPH et MAXWELL, 1986). Outros estudos concluíram que é possível diferenciar esteatose de fibrose nos casos de fibrose avançada, em que o aumento dos ecos é grosseiro, sem sombra acústica (MATHIESEN, FRANZEN, ASELIUS et al., 2002; PALMENTIERI, DE SIO, LA MURA et al., 2006). O estudo de Taylor et al., publicado em 1986, também já demonstrava claramente que a presença da gordura é suficiente para aumentar a atenuação do fígado e que a fibrose por si não altera esta atenuação significativamente.

Fatores técnicos como a frequência do transdutor e parâmetros técnicos de “*presetting*” do equipamento de USG também podem interferir na ecogenicidade hepática (CERRI e OLIVEIRA, 2008).

A principal limitação da USG bidimensional utilizada na rotina é a sua dependência do operador. Em um estudo retrospectivo a esteatose foi avaliada em 168 pacientes, por três radiologistas experientes e independentes. O exame foi repetido após um mês e as variabilidades inter e intra-observador foram calculadas. A média das taxas de concordância inter-observador para presença de esteatose foram de 72-76%, enquanto a concordância intra-observador para o grau de esteatose variou de 55-68% (SAADEH, YOUNOSSI, REMER et al., 2002).

Estes achados estão de acordo com os resultados de Fishbein et al. (2005), que correlacionaram a biópsia por agulha, ressonância magnética e USG bidimensional convencional na esteatose hepática, demonstrando que a USG pode não ser confiável na discriminação de alterações discretas no conteúdo de gordura hepático.

A maioria dos estudos se refere a três ou mais parâmetros para gradação da esteatose (discreta, moderada e acentuada) baseados na hiperecogenicidade, discrepância da amplitude dos ecos entre fígado e rim e “borramento” da parede dos vasos portais e do diafragma. Isto torna a USG uma modalidade vulnerável a erros quando utilizada para avaliar as pequenas alterações no conteúdo de gordura hepática. A diminuição de 20-40% da esteatose, por exemplo, pode não corresponder a uma mudança detectável e confiável na ecogenicidade hepática à USG (FISHBEIN, CASTRO, CHERUKU, 2005).

A USG bidimensional convencional é uma ferramenta de uso estabelecido para rastreamento com sensibilidade e especificidade aceitáveis na detecção da esteatose. Contudo as limitações são a baixa acurácia em diferir esteatose de fibrose e baixa reprodutibilidade na

quantificação do grau de esteatose, por tratar-se de método examinador dependente e com avaliação muitas vezes subjetiva (SAADEH, YOUNOSSI, REMER et al., 2002; CHARATCHAROENWITTHAYA e LINDOR, 2007)

Visando solucionar a subjetividade da USG, estudos anteriormente publicados analisaram o histograma do nível de brilho, uma representação gráfica da intensidade dos ecos, na tentativa de diagnosticar e classificar o grau de esteatose (OSAWA e MORI, 1996; ANDRADE, ANDRADE, ANDRADE et al., 2006; WEBB, YESHUA, ZELBER-SAGI et al., 2009; MANCINI, PRINSTER, ANNUZI et al., 2009).

O histograma é uma forma de quantificar o número de “pixels” na imagem decorrente da reflexão da onda sonora em um determinado tecido. O histograma quantifica a amplitude com desvio padrão dos “pixels” em uma determinada área selecionada (OSAWA e MORI, 1996; ANDRADE, ANDRADE, ANDRADE et al., 2006; WEBB, YESHUA, ZELBER-SAGI et al., 2009; MANCINI, PRINSTER, ANNUZI et al., 2009).

Como colocado anteriormente, o parênquima hepático não esteatótico exibe uma ecotextura similar àquela do parênquima renal, mas apresenta hiperecogenicidade quando infiltrado de gordura, no que se fundamenta o contraste hepatorrenal. Webb et al. (2009) estudaram 93 pacientes com hepatopatia crônica (não exclusivamente a DHGNA) que submeteram-se à biópsia hepática e observaram que a razão hepatorrenal, utilizando histogramas, pode quantificar o grau de esteatose. Osawa e Mori (1996), utilizando a tomografia computadorizada como padrão ouro, observaram que a razão hepatorrenal foi capaz de predizer a esteatose com 91,3% de sensibilidade, 83,8% de especificidade e 86,7% de acurácia.

A USG com Doppler poderia aprimorar o ultrassom bidimensional avaliando o fluxo sanguíneo hepático por meio da análise das veias hepáticas e porta, bem como a artéria hepática (WANLESS e SHIOTA,

2004). Em adultos normais o fluxo venoso portal é hepatopetal com variações mínimas durante a respiração e de acordo com o ciclo cardíaco. Estudos prévios sugeriram que indivíduos normais têm fluxo portal pulsátil (WACHSBERG, NEEDLEMAN, WILSON, 1995; GALLIX, TAOUREL, DAUZAT et al., 1997).

Outros estudos têm sugerido que as características do fluxo na veia porta são alteradas na infiltração gordurosa hepática (BALCI, KARAZINCIR, SUMBAS et al., 2008; ERDOGMUS, TAMER, BUYUKKAYA et al., 2008). Assim o conhecimento atual sugere que a esteatose causa aumento do volume da massa celular hepática, com compressão e diminuição da complacência venosa intra-hepática. Isso provocaria redução da velocidade e pulsatilidade venosa portal, com conseqüente modificação do padrão de fluxo (BROWNING, 2009).

As veias hepáticas também demonstram redução de pulsatilidade nos casos de infiltração gordurosa, passando do padrão pulsátil trifásico, para bifásico, até o fluxo monofásico, onde não se identifica nenhuma oscilação na onda de velocidade de fluxo registrada pelo Doppler pulsátil (OGUZKURT, YILDRIM, TORUM et al., 2005). A artéria hepática também pode apresentar modificações da onda de velocidade do fluxo (OVF) com hiperfluxo e queda da impedância, quantificada pela redução dos índices de resistência de pulsatilidade, como equilíbrio à redução do fluxo portal (MIHMANLI, KANTARCI, YILMAZ et al., 2005).

1.5. JUSTIFICATIVA

Sabe-se que a síndrome metabólica, a qual se relaciona centralmente com a DHGNA, tem características populacionais específicas. Por isso é importante haverem estudos nacionais.

A correlação das variáveis ultrassonográficas com o anatomopatológico poderá gerar novos conhecimentos, com consequente redução do número de biópsias no futuro. Isto seria benéfico já que se trata de uma doença muito prevalente, que acomete inclusive crianças, sendo a biópsia um procedimento não isento de riscos (ROCKEY, CALDWELL, GOODMAN et al, 2009).

A esteatose hepática é o único achado que deve estar obrigatoriamente presente para definir o diagnóstico de DHGNA e é o mais característico. A gradação mais acurada da esteatose possibilitará a avaliação mais adequada da resposta terapêutica, tanto na prática clínica diária quanto em experimentos clínicos.

A quantificação pré-operatória da esteatose hepática é importante para pacientes que serão submetidos a ressecção hepática parcial mesmo por lesões benignas (NAGAI, FUJIMOTO, KAMEI et al., 2009), pois estudos mostraram, inclusive uma meta-análise que a presença de esteatose foi o fator mais relacionado ao mau prognóstico pós operatório (DAVID, YUMAN, ARIEF et al., 2003). É importante ainda na seleção de doadores para o transplante de fígado inter vivos, pois sua ocorrência aumenta o risco de disfunção primária do enxerto após o transplante (MINERVINI, RUPPERT, FONTES et al., 2009) e a morbidade do próprio doador (MINERVINI, RUPPERT, FONTES et al., 2009). É bastante desejável que esta avaliação seja precisa e não invasiva para não acarretar risco pré-operatório para o doador relacionado à biópsia hepática (LIMANOND, RAMAN, LASSMAN et al., 2004).

Estudos prévios mostraram boa correlação entre a razão hepatorrenal, o fluxo da veia porta ao Doppler e o grau de esteatose. No entanto, características metodológicas, como a ausência de referência histológica, desenho retrospectivo e grupo de estudo heterogêneo, formado por pacientes com doenças hepáticas crônicas de etiologias diferentes poderiam comprometer a conclusão destes estudos. Além disso, a maioria dos estudos em que foram analisados métodos não invasivos em comparação à biópsia hepática, incluiu pacientes para os quais já haveria indicação de biópsia pela presença de preditores de gravidade como enzimas hepáticas elevadas, plaquetopenia, obesidade mórbida, idade superior a 45 anos, o que também poderia determinar vieses já de início.

Métodos objetivos de avaliar a reflexão e a atenuação do feixe sonoro, assim como a repercussão da esteatose na velocimetria da veia porta ao Doppler não estão validados. Dada a elevada prevalência e a importância clínica da DHGNA, acreditamos que é importante compreender a capacidade de graduação da esteatose por meio da USG com maior acurácia, tendo em vista ser esse um método não invasivo, acessível e de baixo custo.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo foram:

2.1. Geral

Correlacionar dados ultrassonográficos com Doppler hepático, de pacientes portadores de doença gordurosa não alcoólica, com achados anatomopatológicos obtidos por biópsia transcutânea.

2.2. Específico

Avaliar os parâmetros ultrassonográficos: razão hepatorrenal, índice venoso portal e padrão de onda de velocidade de fluxo da veia hepática direita na gradação da esteatose em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Considerações Éticas

O protocolo de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia, sob o parecer número 065/08 (Anexo A). Foram incluídos somente aqueles voluntários que assinaram termo de consentimento livre e esclarecido após esclarecimento verbal.

3.2. Casuística

No período compreendido entre outubro de 2008 a novembro de 2009, foram avaliados, no ambulatório de fígado gorduroso do Hospital de Clínicas da UFU, 182 pacientes portadores de DHGNA. Dentre estes, 42 foram incluídos neste estudo, avaliados clinicamente, por ultrassonografia, por avaliação laboratorial e biópsia hepática e constituíram o grupo doente (com esteatose).

Foram incluídos, também, outros 40 voluntários, saudáveis, sem fatores de risco para DHGNA, ingestão alcoólica nenhuma ou mínima, sem diabetes ou obesidade, os quais constituíram o grupo controle (sem esteatose). O grupo controle foi submetido à mesma avaliação do grupo doente, exceto biópsia hepática, por motivos éticos.

Todos os voluntários do grupo doente seguiram os critérios de inclusão e exclusão específicos para o estudo, descritos a seguir. Os voluntários do grupo controle seguiram os mesmos critérios de inclusão, exceto a presença de esteatose hepática à USG, e exclusão. Também foram critérios de exclusão para o grupo controle qualquer evidência de resistência insulínica ou fator de risco para DHGNA.

3.2.1. Critérios de inclusão

- a) Presença de esteatose verificada por ultrassonografia
- b) Idade de 18-70 anos, ambos os sexos
- c) Consentimento por escrito após esclarecimento verbal informado

3.2.2. Critérios de exclusão

- a) Ingestão de álcool > 140g/semana para homens e > 70g/semana para mulheres (GEORGE e FARRELL, 2005)
- b) Uso de medicações conhecidamente hepatotóxicas como, por exemplo, tetraciclina, amiodarona, alfametildopa e tamoxifeno
- c) Hepatites virais crônicas B ou C
- d) Hemocromatose
- e) Doença de Wilson
- f) Deficiência de alfa 1-antitripsina
- g) Hepatite autoimune
- h) Outras hepatopatias crônicas, hipertensão portal, cirrose, ascite e insuficiência hepática
- i) Qualquer distúrbio de coagulação sanguínea, por mínimo que fosse
- j) Cardiopatias, isquemia aguda coronariana, cerebral ou periférica
- k) Insuficiência respiratória
- l) Nefropatia, rim direito ectópico ou ausente
- m) Lesões hepáticas focais
- n) Lesões renais focais, que prejudicassem a comparação entre o fígado e o rim
- o) Gravidez e lactação
- p) Recusa em participar da pesquisa.

3.3. Métodos

3.3.1. Desenho

Trata-se de estudo de diagnóstico, em que os dados foram colhidos prospectivamente. Foi realizado em um único centro de pesquisa, na Universidade Federal de Uberlândia. Os voluntários foram incluídos consecutivamente.

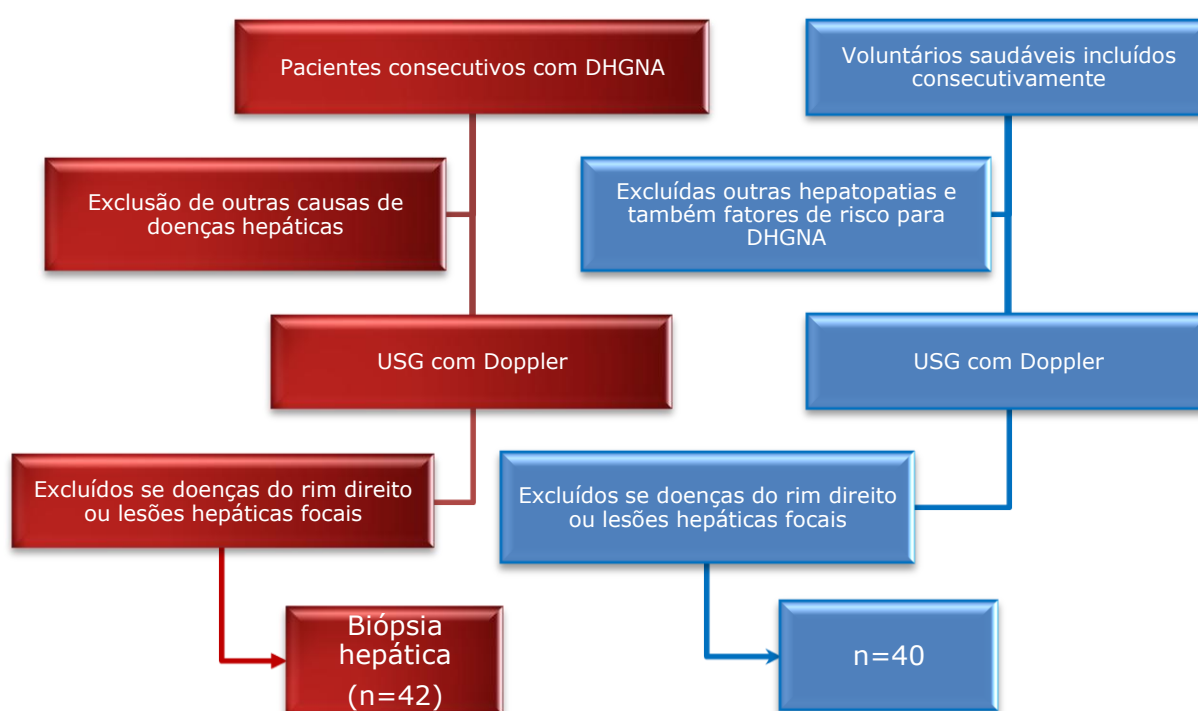


Figura 3 - Fluxograma da inclusão de sujeitos da pesquisa

3.3.2. Avaliação clínica

Os dados demográficos e as medidas antropométricas como altura e peso foram obtidos durante consultas ambulatoriais. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela fórmula de Quetlet $IMC = \text{peso em kg} / (\text{altura em m})^2$. A circunferência da cintura (CC) foi medida, em centímetros, utilizando fita inelástica, no ponto médio localizado entre a última costela e a crista ilíaca, no final da expiração normal. A circunferência do quadril foi medida no ponto de maior protuberância glútea. A razão cintura quadril (RCQ) foi obtida pela divisão da CC pela circunferência do quadril.

A presença de comorbidades orgânicas foi avaliada ambulatorialmente. Hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, hipertrigliceridemia e síndrome metabólica foram definidas de acordo com os critérios do *Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults final report* (NCEP-ATP III), 2002 modificado quanto ao ponto de corte da glicemia de 110mg/dL para 100mg/dL (GENUTH, ALBERTI, BENNETT, 2003) (Quadro 1).

Os valores de referência para a medida da RCQ foram os estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

Crítérios	Pontos de corte
Circunferência da cintura aumentada	≥102 cm em homens ≥88 cm em mulheres
Triglicérides elevados	≥150 mg/dl ou em tratamento com medicações para hipertrigliceridemia
HDL-colesterol baixo	<40 mg/dl em homens <50 mg/dl em mulheres ou em uso de medicações para HDL-C baixo
Pressão arterial elevada	≥130 mmHg de pressão sistólica ≥85 mmHg de pressão diastólica ou em uso de drogas anti-hipertensivas em um paciente com história prévia de hipertensão.
Glicemia de jejum elevada	≥100 mg/dl ou em tratamento com drogas para glicemia elevada por diagnóstico prévio de diabetes

Quadro 1 - Critérios diagnósticos para síndrome metabólica

Fonte: Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults final report (NCEP-ATP III), 2002 modificado quanto ao ponto de corte da glicemia de 110mg/dL para 100mg/dL (GENUTH, ALBERTI, BENNETT, 2003).

3.3.3. Provas laboratoriais

Os seguintes exames foram realizados: hemograma completo, lipidograma plasmático, coagulograma, proteínas totais e frações, aspartato aminotransferase, alanino aminotransferase, fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, bilirrubina total e frações, glicemia, insulinemia, marcadores para hepatite B e C, autoanticorpos, cobre e ceruloplasmina séricos, perfil de ferro.

3.3.3.1. Avaliação da resistência insulínica

Para os casos que não preencheram critérios diagnósticos de DM2 e que não apresentaram glicemia de risco para diabetes, foi calculado o índice de HOMA-IR. Para isto, a insulina e glicemia foram colhidas em jejum e o cálculo feito conforme a equação: $\text{Glicemia (mg/dL)} \times \text{Insulina (UI/mL)} \div 405$ (TURNER, HOLMAN, MATTHEWS, 1979).

3.4. Avaliação Ultrassonográfica

Todos os 82 voluntários foram examinados por USG em modo B (*modo brilho*) e com Doppler, utilizando-se transdutor convexo multifrequencial de 2 a 5 MHz (*Voluson 730 PRO V, General Electric, Milwaukee, USA*).

Os sujeitos da pesquisa foram examinados em jejum, pela manhã, entre 8h e 10h, em decúbito dorsal, com os braços estendidos ao lado da cabeça.

Todos os segmentos do fígado, baço e rins foram examinados e malformações vasculares, cistos, lesões focais dos parênquimas, excluídos. Alterações renais, atrofia ou ectopia do rim direito também foram critérios de exclusão.

O *ganho* do aparelho foi mantido na mesma posição (zero), sem ativar o *modo harmônica*, com *curva de compensação equilibrada* na posição central de ajuste, para evitar vieses na aquisição de imagem.

Achados à USG em modo brilho, de infiltração gordurosa do fígado, incluíram aumento difuso da ecogenicidade, aumento da atenuação acústica, apagamento do diafragma e *borramento* das margens vasculares (CHARATCHAROENWITTHAYA e LINDOR, 2007).

3.4.1. Razão hepatorenal

Para obter uma medida numérica da intensidade dos ecos, foram utilizados os histogramas. Para adquirí-los o *probe* foi colocado em posição coronal subcostal direita em cada voluntário até que imagens estáveis do parênquima hepático e renal pudessem ser obtidas. Áreas de interesse de aproximadamente 1,2 x 1,2 cm foram selecionadas de forma a conter somente parênquima hepático e renal sem nenhum vaso visível, seio renal ou medula. As *áreas de interesse* hepática e renal foram selecionadas no mesmo plano e mesma profundidade para evitar efeitos de distorção de imagem. A razão hepatorenal foi obtida da divisão da amplitude de “pixels” da área de interesse hepática pela renal (figura 4).

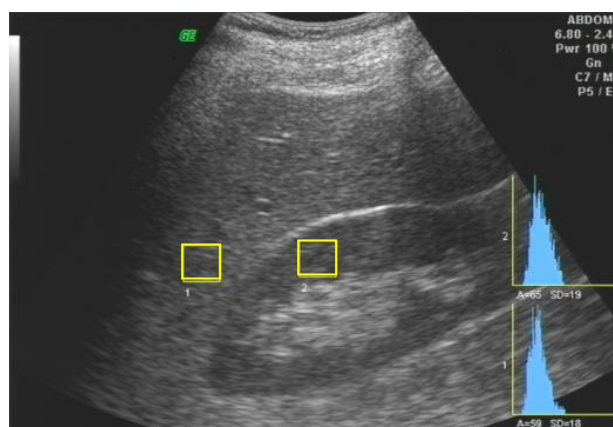


Figura 4 - Imagem ultrassonográfica coronal obtida para a comparação entre o fígado e o rim.

A figura mostra as áreas de interesse (caixas) de 1,2 cm x 1,2 cm localizadas no parênquima hepático (à esquerda) e córtex renal (à direita) e os respectivos histogramas.

3.4.2. Avaliação do índice de pulsatilidade venosa portal

As medidas da veia porta foram realizadas durante apnéia, no início da inspiração, para evitar modificações causadas por inspiração profunda, e uma análise espectral da onda de velocidade do fluxo venoso portal foi gravada por, pelo menos, 5 segundos de pausa inspiratória (SCATARIGE, SCOTT, DONOVAN et al., 1984).

O ponto de medição da veia de porta foi na porção extra-hepática, proximal à bifurcação (figura 5). A janela foi ajustada em 6-10 mm, de acordo com o diâmetro do vaso, e o Doppler foi registrado por aproximadamente 5 segundos em ângulo inferior a 30°. A velocidade máxima do pico de fluxo ($V_{M\acute{a}x}$) e a velocidade mínima de pico ($V_{M\acute{i}n}$) foram registradas para cada voluntário e documentadas em foto. O índice venoso portal (IVP) foi obtido em todos os pacientes e controles por meio da subtração $V_{M\acute{i}n}$ da $V_{M\acute{a}x}$ e divisão do resto pela $V_{M\acute{a}x}$ [$IVP=(V_{M\acute{a}x}-V_{M\acute{i}n})/V_{M\acute{a}x}$].



Figura 5 - À direita, o Doppler portal mostrando nítida pulsatilidade da veia porta (índice venoso portal de 0,47) e à esquerda baixa pulsatilidade (índice venoso portal de 0,18).

3.4.3. Avaliação do padrão de fluxo na veia hepática

O modo Doppler colorido foi acionado sobre as veias hepáticas, para identificá-las e avaliar o padrão de pulsatilidade e direcionamento do fluxo. Padronizou-se a avaliação da veia hepática direita através do 10 ou 11º espaço intercostal direito durante leve inspiração, a uma distância de 2,0 cm distal à confluência das veias hepáticas para evitar artefatos no padrão da onda. A análise foi gravada por pelo menos 4 ciclos cardíacos (cerca de 6 segundos). A angulação do transdutor foi de 30º. O padrão da onda foi classificado em 3 grupos: regular trifásico com fluxo reverso curto, bifásico sem fluxo reverso mas com flutuação de mais de 10% da amplitude fásica média e monofásico ou plano com oscilação da onda menor que 10% da amplitude média (figura 6).

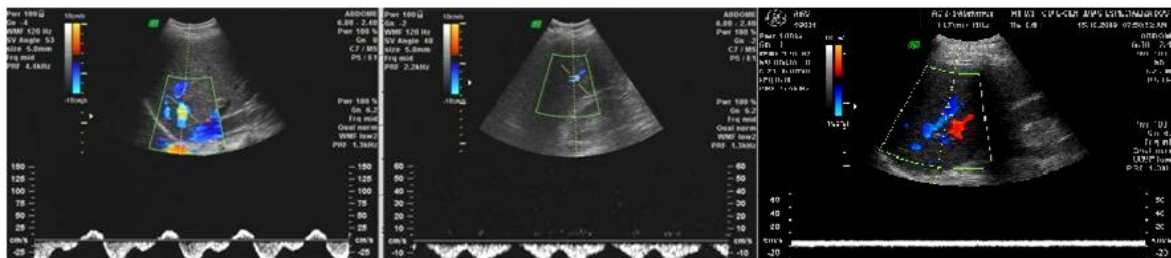


Figura 6 - Padrão de fluxo na veia hepática ao Doppler. À esquerda o padrão trifásico, no centro bifásico e à direita o padrão monofásico.

Devido às alterações no diâmetro do vaso, de até 2 mm por ciclo cardíaco durante a sístole e diástole, e direções diferentes do fluxo não foi calculada a velocimetria nas veias hepáticas.

3.5. Avaliação Histológica

A biópsia hepática por agulha de “Tru-cut” foi colhida do lobo direito do fígado durante a ultrassonografia. O fragmento de tecido hepático de cerca de 10 mm foi fixado em formol salino a 4% e submetido a colorações hematoxilina-eosina e Tricrômico de Masson, segundo o método adotado na divisão de Anatomia Patológica do HC-UFU. Um único observador, um patologista experiente, procedeu à avaliação do material, sem conhecer os dados ultrassonográficos correspondentes. A biópsia foi realizada com intervalo entre o exame ultrassonográfico de uma semana.

3.5.1. Caracterização do perfil histopatológico hepático

A avaliação histopatológica baseou-se na classificação padronizada por meio da revisão pelo Pathology Committee of the NASH Clinical Research Network (KLEINER, BRUNT, VAN NATTA et al., 2005) que designou e validou as características histológicas e um sistema de escore de atividade para DHGNA para estudos clínicos.

3.5.1.1. Variáveis histopatológicas

As variáveis histopatológicas foram descritas e subdivididas em alterações hepatocelulares, fibrose e infiltrado inflamatório (anexo B). As alterações hepatocelulares procuradas sistematicamente foram: esteatose, balonização hepatocelular e corpúsculo hialino de Mallory. A esteatose foi classificada como discreta (até 33% dos hepatócitos infiltrados por gotículas de gordura), moderada (de 33 a 66%) e acentuada (mais de 66% de infiltração gordurosa em hepatócitos). O

infiltrado inflamatório foi discriminado em intensidade discreta, moderada e acentuada. A fibrose foi descrita segundo a localização no ácino hepático, o aspecto e a intensidade.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada usando o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS para Windows, versão 16.0; Chicago; IL).

A distribuição dos dados foi analisada usando o teste de normalidade de Lilliefors. As variáveis contínuas foram expressas como média $\pm$ desvio padrão, mediana e quartis, quando apropriado, e comparadas utilizando análise de variância entre médias (ANOVA) e teste de Tukey para análise pós *Hoc*. As variáveis categóricas foram expressas por frequência absoluta (n) e relativa (%) e analisadas utilizando os testes de Mann-Whitney e Fischer.

As análises de correlação foram realizadas utilizando o coeficiente de Spearman.

Todos os testes de significância foram bilaterais, tendo sido adotado nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$) e níveis descritivos (*P*) inferiores a esse valor foram considerados significantes.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização clínica dos doentes e controles

As características clínicas de pacientes com esteatose em comparação aos controles estão demonstradas na tabela 1.

Os grupos foram pareados quanto à idade e o sexo. A idade dos voluntários do grupo controle variou de 27 a 70 anos, com média $42,48 \pm 11,52$. A média de idade dos sujeitos do grupo doente (com esteatose) foi de $46,62 \pm 10,32$ anos. Utilizando-se análise de variância (ANOVA para uma variável) não se encontrou diferença significativa entre as médias de idade ($P=,0898$). O grupo controle constituiu-se de 11 homens e 29 mulheres enquanto o grupo esteatose de 7 homens e 35 mulheres. Utilizando o teste de Fisher, não se observou diferença significativa entre estas proporções ($P=,291$).

Não houve diferença significativa entre os grupos com relação ao nível de albumina sérica, bilirrubinas, número de plaquetas e índice de saturação da transferrina.

Os pacientes com DHGNA apresentaram índices de obesidade, dislipidemia, resistência insulínica, enzimas hepáticas e níveis de ferritina alterados e elevados em relação aos controles.

Tabela 1 - Características clínicas e laboratoriais dos grupos com esteatose e controle expressas em média $\pm$ desvio padrão exceto para as variáveis categóricas, expressas, quando indicado, em frequências absoluta e percentual.

	Esteatose (n=42)	Controle (n=40)	P
Idade (anos)	46,62 $\pm$ 10,32	42,48 $\pm$ 11,52	,0898
Sexo masculino (%)	7 (16,67%)	11 (27,20%)	,291
Albumina (g/dL)	4,67 $\pm$ 0,52	4,68 $\pm$ 0,41	,9552
Plaquetas /1000	276,45 $\pm$ 75,36	255,59 $\pm$ 48,71	,1463
IST	30,19 $\pm$ 13,30	32,95 $\pm$ 11,44	,3597
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,64 $\pm$ 0,57	0,79 $\pm$ 0,42	,2056
FAN (% reagentes)	8 (19,04%)	6 (15,00%)	,935
CC (homens) (cm)	103,71 $\pm$ 7,45	85,45 $\pm$ 11,00	,000
CC (mulheres) (cm)	102,97 $\pm$ 11,17	74,65 $\pm$ 7,46	,000
RCQ (homens)	0,98 $\pm$ 0,05	0,87 $\pm$ 0,05	,000
RCQ (mulheres)	0,92 $\pm$ 0,08	0,77 $\pm$ 0,07	,000
IMC (Kg/m ²)	32,53 $\pm$ 5,97	22,40 $\pm$ 2,43	,0000
Glicemia (mg/dL)	105,05 $\pm$ 23,39	85,13 $\pm$ 7,46	,0000
HOMA-IR	2,84 $\pm$ 2,77	0,88 $\pm$ 0,49	,0003
Colesterol total (mg/dL)	197,88 $\pm$ 36,49	180,44 $\pm$ 40,39	,0488
Triglicérides (mg/dL)	163,36 $\pm$ 81,96	88,73 $\pm$ 41,17	,0000
HDL (mg/dL)	45,09 $\pm$ 10,23	59,95 $\pm$ 10,95	,0000
Aspartato amino transferase*	0,79 $\pm$ 0,65	0,38 $\pm$ 0,11	,0003
Alanino amino transferase*	1,08 $\pm$ 0,79	0,41 $\pm$ 0,18	,0000
Gama-glutamil transferase*	1,49 $\pm$ 1,29	0,46 $\pm$ 0,23	,0000
Fosfatase alcalina*	0,75 $\pm$ 0,28	0,53 $\pm$ 0,16	,0001
Ferritina (ng/mL)	207,50 $\pm$ 131,32	122,55 $\pm$ 135,49	,0070

*IST: índice de saturação da transferrina em porcentagem; FAN: fator antinuclear; CC: circunferência da cintura; RCQ: razão cintura/quadril; IMC: índice de massa corporal; HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment for insulin resistance; HDL: High density lipoprotein. *As enzimas hepáticas foram descritas em relação ao respectivo limite superior do normal.*

4.1.1. Avaliação da resistência insulínica

No grupo com esteatose a média do HOMA-IR foi 2,85 e no grupo controle 0,87.

4.2. Avaliação Histológica

A avaliação histológica se refere somente ao grupo doente, o qual foi constituído por pacientes em que a biópsia confirmou a presença de esteatose em todos, sendo que 17 apresentaram esteatose discreta, ou seja, até 33% dos hepatócitos acometidos; 20 sujeitos apresentaram esteatose moderada (33-66% de hepatócitos esteatóticos) e em 5 foi diagnosticada esteatose acentuada, com mais de 66% de hepatócitos infiltrados por gotículas de gordura.

Balonização celular foi identificada em 39 (92,86%) dos 42 pacientes do grupo esteatose, dos quais 25 apresentaram muitas células balonizadas. Não foram encontrados corpúsculo hialinos de Mallory à coloração de rotina.

Todos os pacientes preencheram critérios de EENA, não tendo sido encontrada esteatose pura em nenhum caso. Com relação à inflamação lobular, esta foi discreta em 30 (71,4%) do grupo, moderada em 4 (9,5%) e acentuada em 2 (4,8%). Inflamação portal foi ausente a mínima em 3 pacientes e maior que mínima em 39 (92,86%).

Nenhum dos pacientes avaliados apresentou fibrose avançada que produzisse nodulações (cirrose) à biópsia. Trinta apresentaram algum grau de fibrose, sendo em que 9 (21,4%) foi descrita fibrose em ponte.

4.3. Avaliação Ultrassonográfica

4.3.1. Razão hepatorenal

A ecogenicidade do parênquima hepático, na área de interesse selecionada, dividida pela renal, correlacionou-se positivamente com o grau de esteatose à biópsia. À medida que a ecogenicidade hepática aumentou em relação à cortical renal, notou-se um aumento na RHR proporcional ao aumento da infiltração gordurosa à biópsia hepática. Observou-se forte correlação direta e significativa entre a RHR e o grau de esteatose à biópsia ($r= 0,80$ $P<0,01$).

A média da RHR do grupo controle foi $1,09\pm0,12$ e do grupo com esteatose foi de $1,55\pm0,33$ ($P<0,01$).

Tabela 2 – Razão hepatorenal, expressa em média, desvio padrão e intervalo de confiança (IC) de acordo com o grau de esteatose à biópsia

				Razão hepatorenal		
				Média	Desvio padrão	IC 95%
Grupos	Controle			1,09	0,13	1,05-1,13
	Esteatose	Subgrupos	Discreta	1,46	0,24	1,33-1,58
			Moderada	1,52	0,27	1,40-1,65
			Acentuada	2,04	0,31	1,06-3,01

O gráfico tipo *box-plot* a seguir ilustra as médias e desvios em todos os grupos e a diferença estatística entre as médias.

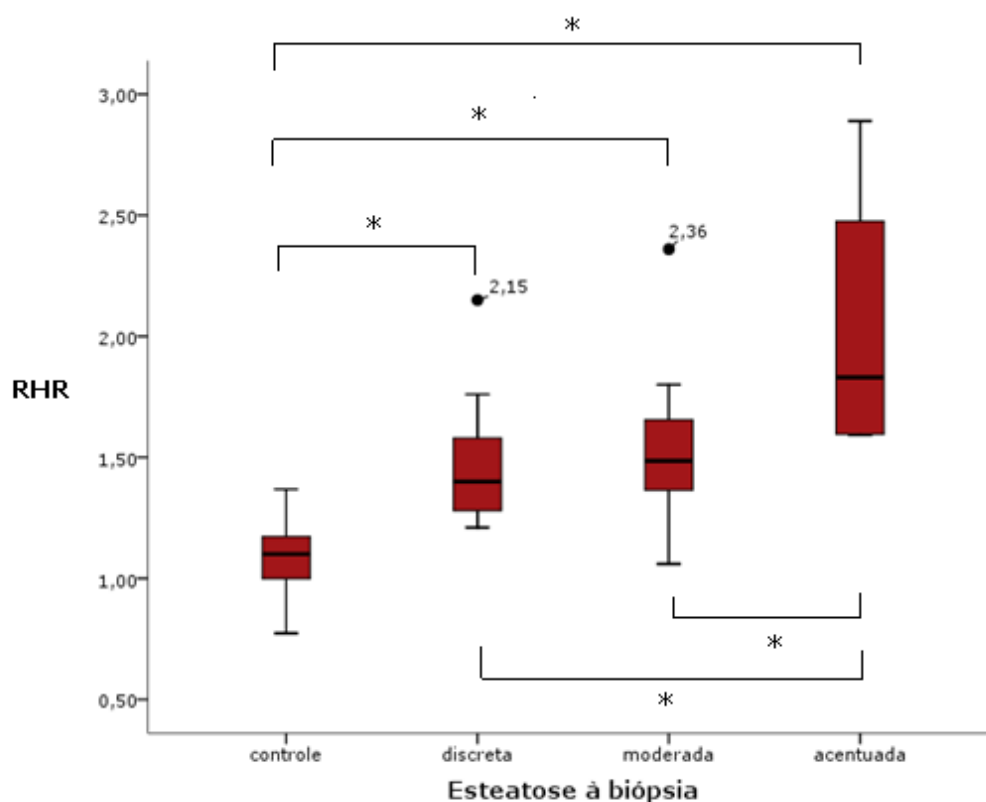


Figura 7 – Gráfico *box-plot* da razão hepatorenal (RHR) de acordo com o grau de esteatose à histologia. A linha horizontal dividindo cada box representa a média. Os valores descritos referem-se aos *outliers*. As chaves de associação expressam a diferença estatística entre os grupos.

*P<0,01

A análise do emprego da RHR para o diagnóstico de esteatose foi feita utilizando-se a curva ROC (*receiver operating characteristic*). A área sob a curva foi de 96,4% (IC 95%: 92,5-100%) (figura 8).

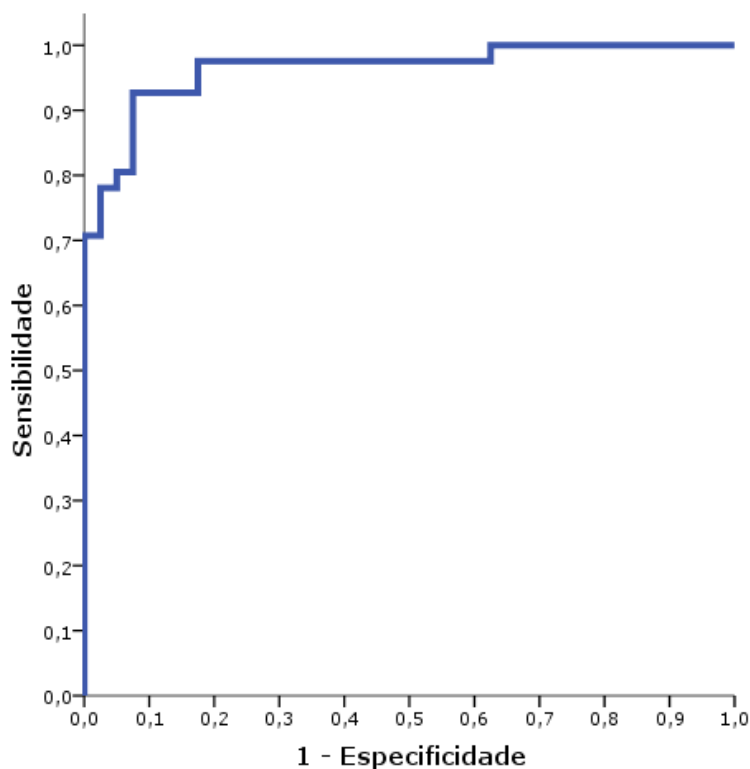


Figura 8 – Gráfico da curva *receiver operating characteristic* (ROC) da sensibilidade plotada contra 1-especificidade da razão hepatorenal para diagnóstico da esteatose à biópsia.

O ponto de corte ótimo da RHR para o diagnóstico da esteatose foi $\geq 1,24$ com sensibilidade de 92,7% e especificidade de 92,5%. Considerando-se a prevalência na população geral mais frequentemente citada na literatura, de 30%, calculou-se os valores preditivo positivo de 84,12%, preditivo negativo de 96,73% e acurácia do teste de 92,56%.

4.3.2. Doppler da veia porta

A onda de velocidade de fluxo da veia porta mostrou-se mais pulsátil no grupo controle do que no grupo de voluntários com esteatose. Os valores da média do IVP foram $0,34 \pm 0,08$ no grupo controle e $0,20 \pm 0,07$ nos voluntários com esteatose ($P < 0,01$) (figura 9).

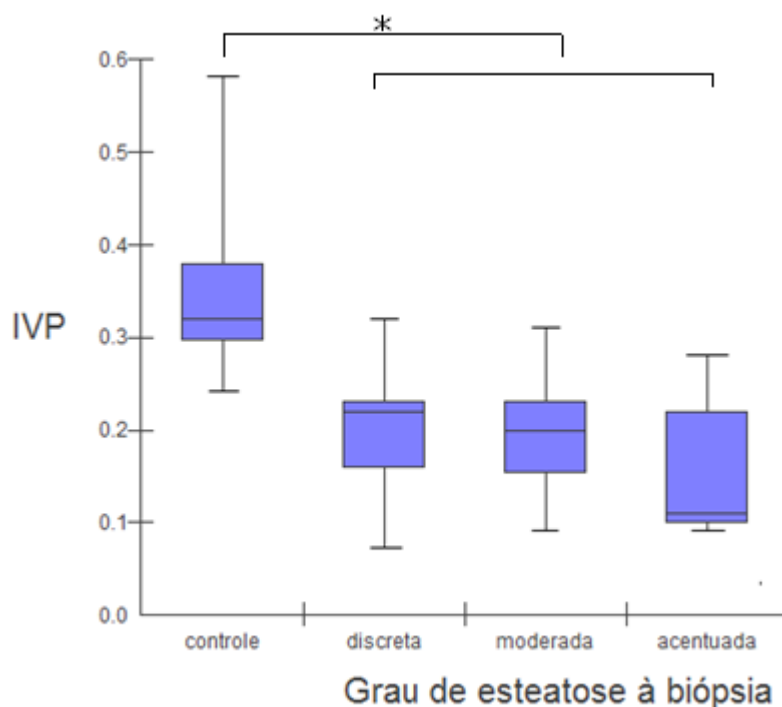


Figura 9 – Grau de infiltração gordurosa baseada na histologia. Gráfico *box-plot* do índice venoso portal (IVP) de acordo com o grau de esteatose. Os limites superior e inferior de cada box representam o quartil superior e inferior, enquanto a linha horizontal, dividindo cada box, a mediana. As barras horizontais representam o percentil 10 e o percentil 90. A chave de associação expressa a diferença estatística entre os grupos controle e doente.

* $P < 0,01$

A média do IVP, desvio padrão e intervalo de confiança para cada grupo, com a diferença estatística entre estes, estão demonstrados na tabela 3.

Tabela 3 - Valores do índice de pulsatilidade venosa portal expressos como média, desvio padrão e intervalo de confiança (IC) para cada grupo

		Índice Venoso portal		
		Média	Desvio padrão	IC 95%
Grupos	Controle*	0,34	0,08	0,32-0,37
	Discreta‡	0,20	0,07	0,17-0,25
	Moderada‡	0,19	0,06	0,16-0,22
	Acentuada‡	0,16	0,09	0,05-0,27

* o grupo controle foi diferente ($P < 0,01$) de todos os grupos por comparação múltipla utilizando-se análise de variância entre médias (ANOVA) e teste de Tukey para análise pós Hoc.

‡ os subgrupos doentes foram diferentes do controle, mas não diferiram entre si significativamente utilizando os mesmos testes descritos.

Houve correlação entre o índice de pulsatilidade venosa portal e o grau de esteatose à biópsia. O coeficiente de correlação de Spearman entre o IVP e o grau de esteatose foi -0,74 ($P < 0,01$), demonstrando correlação inversa e significativa. Além disto, notou-se que a correlação foi maior com o grau de esteatose do que com o grau de inflamação ou fibrose (tabela 4).

Tabela 4 - Correlação de Spearman do grau de esteatose, inflamação e fibrose com o índice venoso portal (IVP).

Variável	Grau de esteatose	Grau de inflamação	Grau de fibrose
IVP	-0,74*	-0,68*	-0,60*

* $P < 0,01$

O ponto de corte do IVP $\leq 0,25$ apresentou-se válido nesta amostra para distinguir o grupo controle do grupo com esteatose, com sensibilidade de 80,5%, especificidade de 92,5% e acurácia de 87,15%. Baseando-se na prevalência populacional de 30%, o valor preditivo calculado foi de 77,53% e o valor preditivo negativo de 91,5.

A área sob a curva ROC encontrada foi de $93,8\% \pm 0,02$ (IC 95%: 89-98%).

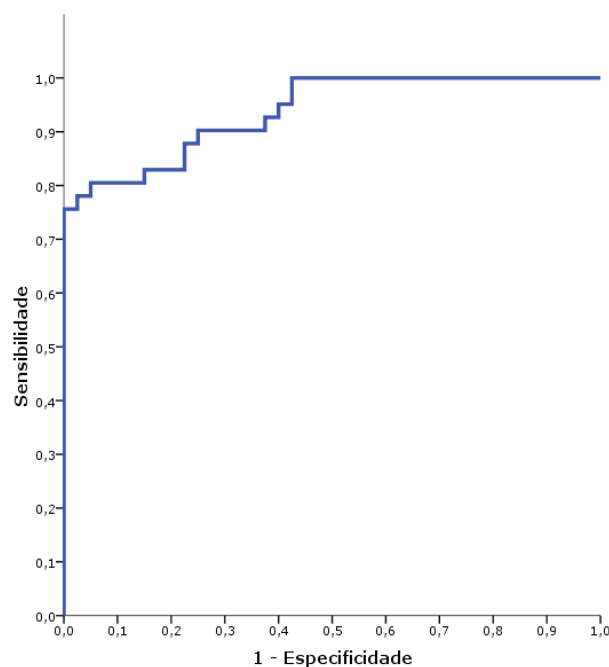


Figura 10 - Gráfico da curva receiver operating characteristic (ROC) da sensibilidade plotada contra 1- especificidade do índice venoso portal (IVP) para diagnóstico da esteatose à biópsia.

4.3.3. Doppler da veia hepática

O padrão da onda de velocidade de fluxo (OVF) na veia hepática ao Doppler foi diferente entre os grupos doente (com esteatose) e o controle (sem esteatose). No grupo controle o padrão de OVF predominante foi o trifásico, enquanto no grupo doente o padrão bifásico ou monofásico. Vinte e dois de 40 pacientes (55%) com esteatose avaliados pelo Doppler, apresentaram padrão anormal da veia hepática, sendo 16 (40%) com padrão monofásico e 6 (15%) com padrão bifásico.

A diferença da frequência do padrão anormal de OVF na veia hepática entre os grupos controle e esteatose, foi significativa ($P < 0,0001$) de acordo com o teste de Mann-Whitney.

A correlação entre o grau de infiltração gordurosa e o padrão de OVF da veia hepática foi inversa e significativa ($r = -0,57 \pm 0,08$, $P < 0,01$).

A diferença da frequência do padrão anormal de OVF na veia hepática entre os subgrupos dos doentes, não foi significativa ($P = 0,33$). A tabela 5 demonstra a distribuição dos padrões de OVF de acordo com o grau de esteatose à histologia.

Tabela 5 - Distribuição do padrão de fluxo da veia hepática direita ao Doppler, nos grupos controle e com esteatose à biópsia, expressas em frequências absoluta e percentual.

		Monofásico	Bifásico	Trifásico	Total
Grupos	Controle	1 (2,5%)	1 (2,5%)	38 (95,0%)	40,0
	Discreta	5 (31,3%)	2 (12,5%)	9 (56,3%)	16,0
	Moderada	8 (42,1%)	3 (15,8%)	8 (42,1%)	19,0
	Acentuada	3 (60,0%)	1 (20,0%)	1 (20,0%)	5,0

5. DISCUSSÃO

A DHGNA é uma causa comum de hepatopatia crônica em indivíduos com resistência insulínica (CUSH, 2009). Possui um espectro de apresentação que vai desde a esteatose podendo evoluir para esteatoepatite, fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHARLTON, 2008). A apresentação mais frequente é pelo achado de aspecto sugestivo de esteatose à USG (WIECKOWSKA e FELDSTEIN, 2008).

Neste estudo foi utilizado um grupo controle para comparação, sem fatores de risco para DHGNA, e este confirmou-se saudável, sem qualquer sinal característico de resistência insulínica, o que o diferenciou bem do grupo doente. A média do índice de HOMA-IR dos voluntários saudáveis foi bastante baixa (0,88) e o ponto de corte encontrado ($>1,35$) entre o grupo controle e o doente foi inferior ao já publicado em outros estudos nacionais (GUIDORIZZI DE SIQUEIRA, COTRIM, ROCHA et al., 2005; GELONEZE, VASQUES, STABE et al., 2009).

As médias das enzimas hepáticas em relação ao limite superior do normal mostraram-se, nesta amostra estudada, compatíveis com elevações muito discretas sendo que na maioria dos casos as aminotransferases estiveram normais, como já foi bem descrito na literatura. Em contrapartida, à histologia, todos os pacientes submetidos à biópsia preencheram algum critério de EENA, reafirmando, o que também já é conhecido, que as enzimas hepáticas estão falsamente normais na maior parte destes pacientes (BROWNING, SZCZEPANIAK, DOBINS et al., 2004; SUZUKI, LYMP, SAUVER et al., 2006).

Este estudo examinou a capacidade de diferentes parâmetros ultrassonográficos na predição do grau de gordura hepática avaliada por histologia. Os dados revelaram boa correlação entre a RHR e o grau de esteatose, utilizando a biópsia como método padrão ouro.

Na população aqui estudada, foi demonstrado que a intensidade da amplitude dos ecos hepático pouco maior que a renal ($RHR > 1.24$), definiu a presença de esteatose hepática por meio da USG, com uma sensibilidade de 92,7% e especificidade de 92,5% em relação ao exame anatomopatológico.

O exame ultrassonográfico bidimensional convencional tem boa acurácia para detectar esteatose moderada e acentuada, mas o diagnóstico de esteatose discreta pode ser difícil sem um método computadorizado. A ecogenicidade do fígado, comparada subjetivamente com o exame do rim, é um marcador clinicamente útil da esteatose.

Estudos anteriores observaram uma relação linear entre a presença de esteatose e o coeficiente de atenuação hepática (TAYLOR, RIELY, HAMMERS et al., 1986; SAVERYMUTTU, JOSEPH, MAXWELL, 1986; PALMENTIERI, DE SIO, LA MURA et al., 2006). Os resultados destes estudos estão de acordo com aqueles que propuseram o uso da diferença entre a amplitude do eco do fígado e do córtex renal como meio para superar a variabilidade da avaliação subjetiva (OSAWA e MORI, 1996; KIM, LEE, KIM et al., 2005; WEBB, YESHUA, ZELBER-SAGI et al., 2009; MANCINI, PRINSTER, ANNUZZI, 2009).

A tabela a seguir (6) demonstra as principais características dos estudos disponíveis na literatura com a metodologia mais próxima possível da atual. *Este difere dos citados por ser prospectivo, com exame anatomopatológico como referência, ter avaliado também fibrose e inflamação, população estudada homogênea (doença hepática gordurosa não alcoólica). Além disto, incluímos voluntários pela presença de esteatose à USG (posteriormente confirmada à histologia) e não voluntários por esteatose acompanhada de enzimas elevadas ou esteatose acompanhada de preditores de gravidade. Este critério de inclusão torna a amostra estudada mais próxima da população geral de portadores de DHGNA.*

Tabela 6 - Características e resultados parciais dos principais estudos disponíveis na literatura que utilizaram a razão hepatorenal para graduar a esteatose hepática em comparação com este trabalho.

	Amostra	n	Padrão ouro	Desenho	Ponto de corte	Sens. (%)	Espec (%)
Osawa, 1996	Esteatose hepática não alcoólica e não viral	70	Tomografia	Prospec.	NA	81,8	83,8
Kim, 2005	Esteatose hepática em doadores de fígado	94	Biópsia*	Retrospec.	1,37-1,89	NA	NA
Webb, 2009	Hepatopatias de várias causas	111	Biópsia*	Retrospec.	1,49	100	91
Mancini, 2009	DHGNA	40	Ressonância	Prospec.	2,20	100	95
Estudo atual	DHGNA	82	Biópsia*	Prospec.	1,24	93	93

* padrão ouro para o grupo doente

Foi previamente relatado que a sensibilidade e especificidade da USG na detecção da infiltração gordurosa hepática diminuem com o aumento do IMC (ALMEIDA, COTRIM, BARBOSA et al., 2008). A sensibilidade e especificidade da USG no diagnóstico da esteatose, no paciente com obesidade mórbida, foram respectivamente de 64,9% e 90,9%. Isto implica em uma limitação na avaliação de populações com alta prevalência de obesidade.

Fibrose hepática causa heterogeneidade na ecotextura do parênquima e poderia, teoricamente, dificultar a avaliação da esteatose. Esta questão da interferência da fibrose do fígado no padrão do brilho foi avaliada por dois estudos em 1986 (TAYLOR, RIELY, HAMMERS et al., 1986; SAVERYMUTTU, JOSEPH, MAXWELL, 1986) e mais recentemente por Palmentieri e cols. (2006), os quais mostraram que somente a esteatose correlacionou-se significativamente com o fígado brilhante. Em nosso estudo a correlação da RHR também foi maior com o grau de esteatose do que com a fibrose. Assim, o padrão do fígado brilhante pode ser considerado um sinal clínico mais específico da esteatose do que da fibrose.

Uma limitação para o uso da RHR é a presença de doença renal. Algumas doenças renais graves podem aumentar a ecogenicidade do córtex, o que prejudicaria a comparação entre o fígado e o rim, assim como o rim direito ectópico ou ausente (HRICAK, CRUZ, ROMANSKI et al., 1982). Outra limitação seria a distribuição heterogênea da infiltração gordurosa, como ocorre na esteatose hepática focal, resultando em erro de amostragem independente da metodologia utilizada, mesmo com biópsia. Na presença de esteatose focal ou de distribuição heterogênea a medida da intensidade do eco em apenas uma "área de interesse" não seria representativa de todo o fígado e assim comprometer a quantificação da esteatose. Nestes casos, resultados das médias de várias áreas em localizações padronizadas poderiam fornecer uma quantificação representativa.

O valor clínico do Doppler na hemodinâmica das veias hepáticas e porta nos quadros de hipertensão portal está bem estabelecido. Já a contribuição da esteatose, inflamação e fibrose na DHGNA para alterar a onda de velocidade de fluxo nas veias hepáticas e porta é foco de interesse mais atual.

Neste estudo, a USG com Doppler e a biópsia hepática foram realizadas na mesma semana, prospectivamente, em um grupo de voluntários portadores de esteatose difusa e homogênea por DHGNA, com objetivo de reduzir eventual viés. Em outros estudos publicados anteriormente foram utilizados bancos de dados de biópsias e de imagens ultrassonográficas gravadas (WEBB, YESHUA, ZELBER-SAGI et al., 2009). Outras condições que poderiam interferir no Doppler como gravidez, insuficiência cardíaca, valvulopatias e doença pulmonar crônica foram excluídas.

Com relação ao uso do Doppler venoso portal, Galix et al., em 1997 e Barakat et al em 2002 relataram valores do IVP de $0,48 \pm 0,31$ e $0,39 \pm 0,10$ (média e desvio padrão) respectivamente em indivíduos normais. O grupo controle do presente estudo apresentou IVP de

0,34±0,08 (IC 95%: 0,32-0,37). Comparando com os controles, o padrão da onda na veia porta foi achatando-se à medida da progressão da esteatose, chegando a 0,16±0,09 (IC 95% 0,05-0,27) naqueles com grau acentuado ($P < 0,01$). Este achatamento foi devido à diminuição da $V_{Máx}$ e aumento da V_{Min} . O achatamento da onda da veia porta foi mais fortemente influenciado pela deposição de gordura intra-hepática do que pela fibrose ou pela inflamação, demonstrando que o aumento do volume da massa de hepatócitos infiltrados por gordura pode influenciar na complacência venosa hepática, com reflexo na pulsatilidade da veia porta.

Com relação ao Doppler das veias hepáticas, Dietrich e cols., em seu estudo publicado em 1998, demonstraram que a relação entre o lobo esquerdo hepático e o coração frequentemente leva a artefatos no sinal do Doppler principalmente pelos movimentos cardíacos. Devido a isto a avaliação especialmente da veia hepática esquerda nem sempre é confiável. Em 35 de 135 pacientes a avaliação da veia hepática média só foi possível durante a inspiração profunda, com os artefatos da respiração produzindo uma OVF monofásica inicial mudando para bifásica e trifásica durante o exame. A avaliação mais reprodutível da OVF foi a colhida da veia hepática direita via intercostal com angulação de 30° conforme realizado neste estudo. Outros autores, em estudo com desenho semelhante a este estudaram o fluxo da veia hepática direita em obesos (KARABULUT, KAZIL, YAGCI et al., 2004) encontrando porcentagem semelhante de padrão patológico de fluxo em controles e doentes.

6. CONCLUSÕES

Houve maior correlação dos parâmetros ultrassonográficos, utilizando Doppler, com o grau de esteatose hepática do que com o grau de inflamação ou com o grau de fibrose à biópsia.

A razão heptorrenal demonstrou correlação significativa e positiva com o grau de infiltração gordurosa ao anatomopatológico e apresentou-se como o melhor parâmetro ultrassonográfico na gradação da esteatose hepática em pacientes com DHGNA.

O índice venoso portal apresentou correlação inversa e significativa com o grau de esteatose à histologia, entretanto não discriminou os graus de esteatose.

O padrão trifásico da onda de velocidade de fluxo da veia hepática direita foi mais frequente nos controles em relação ao grupo doente. Porém não foram encontradas diferenças significantes entre os padrões de OVF da veia hepática direita entre os três subgrupos de esteatose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L. J. O.; ANDRADE, M. H. F.; ANDRADE, G. F. et al. Quantificação da ecogenicidade hepática para a classificação ultrassonográfica da doença hepática gordurosa não alcoólica. **GED: Gastroenterologia Endoscopia Digestiva**, São Paulo, v. 25, n. 6, p. 159-164, nov./dez. 2006.

BALCI, A.; KARAZINCIR, S.; SUMBAS, H. et al. Effects of diffuse fatty infiltration of the liver on portal vein flow hemodynamics. **Journal of Clinical Ultrasound**, New York, v. 36, n. 3, p. 134-140, Mar./Apr. 2008.

BARAKAT, M. Portal vein pulsatility and spectral width changes in patients with portal hypertension: relation to the severity of liver disease. **British Journal of Radiology**, London, v. 75, n. 893, p. 417-421, May 2002.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003. Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE: Rio de Janeiro, 2004. p. 67.

BROWNING, J. D. New imaging techniques for non-alcoholic steatohepatitis. **Clinics in Liver Disease**, Philadelphia, v. 13, n. 4, p. 607-619, Nov. 2009.

BROWNING, J. D.; SZCZEPANIAK, L. S.; DOBBINS, R. et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. **Hepatology**, Baltimore, v. 40, n. 6, p. 1387-1395, Dec. 2004.

BRUNT, E. M. Histopathology on non-alcoholic fatty liver disease. **Clinics in Liver Disease**, Philadelphia, v. 13, n. 4, p. 533-544, Nov. 2009.

CERRI, G. G.; OLIVEIRA, I. R. S. O. **Ultra-sonografia abdominal**. 2.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2008. 618p.

CHARATCHAROENWITTHAYA, P.; LINDOR, K.D. Role of radiologic modalities in the management of non-alcoholic steatohepatitis. **Clinics in Liver Disease**, Philadelphia, v. 11, n. 1, p. 37-54, Feb. 2007.

CHARLTON, M. Cirrhosis and liver failure in nonalcoholic fatty liver disease: Molehills or mountains? **Hepatology**, Baltimore, v. 47, n. 5, p. 1431-1433, May 2008.

CLARK, J. M.; BRANCATI, F. L.; DIEHL, A. M. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 98, n. 5, p. 960-967, May 2003.

COTLER, S. J.; KANJI, K.; KESHAVARZIAN, A. et al. Prevalence and significance of autoantibodies in patients with non-alcoholic steatohepatitis. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 38, n. 9, p. 801-804, Oct. 2004.

CUSI, K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. **Clinics in Liver Disease**, Philadelphia, v.13, n. 4, p. 545-563, Nov. 2009.

DE MOURA ALMEIDA, A.; COTRIM, H. P.; BARBOSA, D. B. et al. Fatty liver disease in severe obese patients: diagnostic value of abdominal ultrasound. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v. 14, n. 9, p. 1415-1418, Mar. 2008.

DIETRICH, C.F.; LEE, J.H.; GOTTSCHALK, R. et al. Hepatic and portal vein flow pattern in correlation with intrahepatic fat deposition and liver histology in patients with chronic hepatitis C. **AJR: American Journal of Roentgenology**, Leesburg, v. 171, n. 2, p. 437-443, Aug. 1998.

EDMONDSON, H. A.; PETERS, R. L.; REYNOLDS, T. B. et al. Sclerosing Hyaline Necrosis of the Liver in the Chronic Alcoholic. A Recognizable Clinical Syndrome. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 59, p. 646-673, Nov. 1963.

ERDOGMUS, B.; TAMER, A.; BUYUKKAYA, R. et al. Portal vein hemodynamics in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **Tohoku Journal of Experimental Medicine**, Tokyo, v. 215, n. 1, p. 89-93, May 2008.

FABBRINI, E.; SULLIVAN, S.; KLEIN, S. Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Biochemical, Metabolic, and Clinical Implications. **Hepatology**, Baltimore, v. 51, n. 2, p. 679-689, Feb. 2010.

FARGION, S.; MATTIOLI, M.; FRACANZANI A. L. et al. Hyperferritinemia, iron overload, and multiple metabolic alterations identify patients at risk for nonalcoholic steatohepatitis. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 96, n. 8, p. 2448-2455, Aug. 2001.

FISHBEIN, M.; CASTRO, F.; CHERUKU, S. et al. Hepatic MRI for fat quantitation: its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v.39, n. 7, p. 619-625, Aug. 2005.

FOSTER, K.J. ; DEWBURY, K. C.; GRIFFITH, A. H.; WRIGHT, R. The accuracy of ultrasound in the detection of fatty infiltration of the liver. **British Journal of Radiology**, London, v. 53, n. 629, p. 440-442, May 1980.

FREITAS, L. A. R.; COTRIM, H. P. **Atlas NASH: Guia fotográfico da Esteato-Hepatite Não Alcoólica**. 1.ed. São Paulo: Zambon, 2006. 80p.

GALLIX, B. P.; TAOUREL, P.; DAUZAT, M. et al. Flow pulsatility in the portal venous system: a study of Doppler sonography in healthy adults. **AJR: American Journal of Roentgenology**, Leesburg, v. 169, n. 1, p. 141-144, July 1997.

GELONEZE B., TAMBASCIA M.A. Laboratorial evaluation and diagnosis of insulin resistance. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 208-215, Apr. 2006.

GELONEZE B., VASQUES A.C., STABE C.F., et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 2, p. 281-287, Mar. 2009.

GENUTH, S.; ALBERTI, K.G.; BENNETT, P. et al. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, Alexandria, v.26, n. 11, p. 3160–3167, Nov. 2003.

GEORGE, J.; FARRELL, G.C. Practical approach to the diagnosis and management of people with fatty liver diseases. In: FARRELL, G.C., H. P. G. J. M. A. **Fatty Liver Disease: NASH and Related Disorders**. Malden: Blackwell, 2005. p. 181-193.

GUIDORIZZI DE SIQUEIRA, A. C., COTRIM H.P., ROCHA R. et al. Non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance: importance of risk factors and histological spectrum. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, London, v. 17, n. 8, p. 837-841, Aug. 2005.

HAMAGUCHI, M.; KOJIMA, T.; ITOH, Y. et al. The severity of ultrasonographic findings in nonalcoholic fatty liver disease reflects the metabolic syndrome and visceral fat accumulation. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 102, n. 12, p.2708-2715, Dec. 2007

HOYUMPA, A. M., JR.; GREENE, H. L.; DUNN, G. D. et al. Fatty liver: biochemical and clinical considerations. **American Journal of Digestive Diseases**, New York, v. 20, n. 12, p. 1142-1170, Dec. 1975.

HRICAK, H.; CRUZ, C.; ROMANSKI, R. et al. Renal parenchymal disease: sonographic-histologic correlation. **Radiology**, Easton v. 144, n. 1, p. 141-147, July 1982.

HUI, J. M.; SUD, A.; FARRELL, G. C. et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 125, n. 6, p. 1695-1704, Dec. 2003.

KARABULUT, N.; KAZIL, S.; YAGCI, B.; SABIR, N. Doppler waveform of the hepatic veins in an obese population. **European radiology**, Berlin, v. 14, n. 12, p. 2268-2272, Dec. 2004.

KIM, S. H.; LEE, J. M.; KIM, J. H. et al. Appropriateness of a donor liver with respect to macrosteatosis: application of artificial neural networks to US images-initial experience. **Radiology**, Easton v. 234, n. 3, p. 793-803, Mar. 2005.

KLEINER, D. E.; BRUNT, E. M.; VAN NATTA, M. et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, Baltimore, v. 41, n. 6, p. 1313-1321, Jun. 2005.

LAZO, M.; CLARK, J. M. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective. **Seminars in Liver Disease**, New York, v. 28, n. 4, p. 339-350, Nov. 2008.

LEVITSKY, J.; MAILLIARD, M. E. Diagnosis and therapy of alcoholic liver disease. **Seminars in Liver Disease**, New York, v. 24, n. 3, p. 233-247, Aug. 2004.

LIMANOND, P.; RAMAN, S. S.; LASSMAN, C. et al. Macrovesicular hepatic steatosis in living related liver donors: correlation between CT and histologic findings. **Radiology**, Easton, v. 230, n. 1, p. 276-80, Jan 2004.

LUDWIG, J.; VIGGIANO, T. R.; MCGILL, D. B. et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. **Mayo Clinic Proceedings**, Rochester, v. 55, n. 7, p. 434-438, Jul. 1980.

LUPSOR, M.; BADEA, R. Imaging diagnosis and quantification of hepatic steatosis: is it an accepted alternative to needle biopsy? **Romanian Journal of Gastroenterology**, Cluj-Napoca, v. 14, n.4, p. 419-425, Dec. 2005.

MANCINI, M.; PRINSTER, A.; ANNUZZI, G. et al. Sonographic hepatic-renal ratio as indicator of hepatic steatosis: comparison with (1)H magnetic resonance spectroscopy. **Metabolism: clinical and experimental**, Baltimore, v. 58, n. 12, p. 1724-1730, Dec. 2009.

MATHIESEN, U.L.; FRANZÉN, L. E.; ASELIUS, H. 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. **Digestive and Liver Disease**, Roma, v. 34, n. 7, p. 516-522, July 2002.

MATTEONI, C. A.; YOUNOSSI, Z. M.; GRAMLICH, T. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 116, n. 6, p. 1413-1419, June 1999.

MAXWELL, J. D.; SANDERSON, I.; BUTLER, W. H. et al. Hepatic structure and function after modified jejunoileal bypass surgery for obesity. **British Medical Journal**, London, v. 2, n. 6089, p. 726-729, Sep. 1977.

MIHMANLI, I.; KANTARCI, F.; YILMAZ, M. H. et al. Effect of diffuse fatty infiltration of the liver on hepatic artery resistance index. **Journal of Clinical Ultrasound**, New York, v. 33, n. 3, p. 95-99, Mar./Apr. 2005.

MINERVINI, M. I.; RUPPERT, K.; FONTES, P. et al. Liver biopsy findings from healthy potential living liver donors: reasons for disqualification, silent diseases and correlation with liver injury tests. **Journal of Hepatology**, Amsterdam, v. 50, n. 3, p. 501-510, Mar 2009.

MONTO, A.; ALONZO, J.; WATSON, J. J. et al. Steatosis in chronic hepatitis C: relative contributions of obesity, diabetes mellitus, and alcohol. **Hepatology**, Baltimore, v. 36, n. 3, p. 729-736, Sep. 2002.

MOTTIN, C.C.; MORETTO, M.; PADOIN, A. V. et al. The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. **Obesity surgery**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 635-637, May 2004.

NAGAI, S.; FUJIMOTO, Y.; KAMEI, H. et al. Mild hepatic macrovesicular steatosis may be a risk factor for hyperbilirubinaemia in living liver donors following right hepatectomy. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 96, n. 4, p. 437-444, Apr. 2009.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (U.S). EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, Dallas, v. 106, n. 25, p. 3143-421, Dec. 2002.

NEEDLEMAN, L.; KURTZ, A. B.; RIFKIN, M. D. et al. Sonography of diffuse benign liver disease: accuracy of pattern recognition and grading. **AJR: American Journal of Roentgenology**, Leesburg, v. 146, n. 5, p. 1011-1015, May 1986.

OGUZZKURT, L.; YILDIRIM, D. T.; TORUN, D. et al. Hepatic vein Doppler waveform in patients with diffuse fatty infiltration of the liver. **European Journal of Radiology**, Stuttgart, v. 54, n. 2, p. 253-257, May 2005.

ONG, J.P.; YOUNOSSI, Z. M.; SPEER, C. et al. Chronic hepatitis C and superimposed nonalcoholic fatty liver disease. **Liver**, Copenhagen, v. 21, n. 4, p. 266-271, Aug. 2001.

OSAWA, H.; MORI, Y. Sonographic diagnosis of fatty liver using a histogram technique that compares liver and renal cortical echo amplitudes. **Journal of Clinical Ultrasound**, New York, v. 24, n. 1, p. 25-29, Jan. 1996.

PALMENTIERI, B.; DE SIO, I.; LA MURA, V. et al. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. **Digestive and Liver Disease**, Roma, v. 38, n. 7, p. 485-489, July 2006.

PARISE, E. R.; SALGADO, A. L. F. A.; SECAF, R. et al. Prevalência de esteatose hepática em ultra-sonografia de abdome. **GED: Gastroenterologia Endoscopia Digestiva**, São Paulo, v. 22, n. 6, nov./dez. 2003.

PEREIRA, J. E.; COTRIM, H. P.; FREITAS, L. A. R. et al. Esteato-hepatite relacionada ao vírus da hepatite C: perfil clínico-histológico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 42, n.2, p. 115-122, abr. 2006.

POWELL, E. E.; ALI, A.; CLOUSTON, A. D et al. Steatosis is a co-factor in liver injury in hemochromatosis. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 129, n. 6, p. 1937-1943, Dec. 2005.

POWELL, E. E.; JONSSON, J. R.; CLOUSTON, A. D. Steatosis: co-factor in other liver diseases. **Hepatology**, Baltimore, v. 42, n. 1, p. 5-13, July 2005.

RATZIU, V.; BONYHAY, L.; DI MARTINO, V. et al. Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. **Hepatology**, Baltimore, v. 35, n. 6, p. 1485-1493, June 2002.

RATZIU, V.; CHARLOTTE, F.; HEUTIER, A. et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 128, n. 7, p. 1898-1906, June 2005.

ROCHA, R.; COTRIM, H. P.; BITENCOURT, A. G. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in asymptomatic Brazilian adolescents. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v. 15, n. 4, p. 473-477, Jan. 2009.

ROCKEY, D. C.; CALDWELL, S. H.; GOODMAN, Z. D. et al. American Association for the Study of Liver Diseases. Liver biopsy. **Hepatology**, Baltimore, v. 49, n. 3, p. 1017-1044, Mar. 2009.

RYAN, C.K.; JOHNSON, L. A.; GERMIN, B.I. et al. One hundred consecutive hepatic biopsies in the workup of living donors for right lobe liver transplantation. **Liver transplantation**, Philadelphia, v. 8, n. 12, p. 1114-1122, Dec. 2002.

SAADEH, S.; YOUNOSSI, Z.M.; REMER, E.M. et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 123, n. 3, p. 745-750, Sep. 2002.

SAVERYMUTTU, S. H.; JOSEPH, A. E.; MAXWELL, J. D. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. **British medical journal - Clinical research ed**, London, v. 292, n. 6512, p. 13-15, Jan. 1986.

SCATARIGE, J. C.; SCOTT, W. W.; DONOVAN, P. J. et al. Fatty infiltration of the liver: ultrasonographic and computed tomographic correlation **Journal of ultrasound in medicine**. New York, v. 3, n. 1, p. 9-14, Jan. 1984.

SCHWIMMER, J. B.; DEUTSCH, R.; KAHEN, T. et al. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. **Pediatrics**, Evanston, v. 118, n. 4, p. 1388-1393, Oct. 2006.

SUZUKI, A.; LYMP, J.; SAUVER, J. S. et al. Values and limitations of serum aminotransferases in clinical trials of nonalcoholic steatohepatitis. **Liver International**, Oxford, v. 26, n. 10, p. 1209-1216, Dec. 2006.

TAYLOR, K. J.; GORELICK, F. S.; ROSENFELD A. T. et al. Ultrasonography of alcoholic liver disease with histological correlation. **Radiology**, Easton, v. 141, n. 1, p. 157-161, Oct. 1981.

TAYLOR, K. J.; RIELY, C. A.; HAMMERS, L. et al. Quantitative US attenuation in normal liver and in patients with diffuse liver disease: importance of fat. **Radiology**, Easton, v. 160, n. 1, p. 65-71, July 1986.

TURNER, R. C.; HOLMAN, R.R.; MATTHEWS, D. et al. Insulin deficiency and insulin resistance interaction in diabetes: estimation of their relative contribution by feedback analysis from basal plasma insulin and glucose concentrations. **Metabolism: clinical and experimental**, Baltimore, v. 28, n. 11, p. 1086-1096, Nov. 1979.

VALLS, C.; IANNACCONNE, R.; ALBA, E. et al. Fat in the liver: diagnosis and characterization. **European radiology**, Berlin, v. 16, n. 10, p. 2292-2308, Oct. 2006.

WACHSBERG RH, NEEDLEMAN L, WILSON DJ. Portal vein pulsatility in normal and cirrhotic adults without cardiac disease. **Journal of Clinical Ultrasound**, New York, v. 23, n. 1, p. 3-15, Jan. 1995.

WANLESS, I. R.; SHIOTA, K. The pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases: a four-step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis. **Seminars in Liver Disease**, New York, v. 24, n. 1, p. 99-106, Feb. 2004.

WEBB, M.; YESHUA, H.; ZELBER-SAGI, S. et al. Diagnostic value of a computerized hepatorenal index for sonographic quantification of liver steatosis. **AJR: American Journal of Roentgenology**, Leesburg, v. 192, n. 4, p. 909-14, Apr. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO Consultation**. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1999. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_NCD_NCS_99.2.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2009.

WIECKOWSKA, A.; FELDSTEIN, A. E. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease: invasive versus noninvasive. **Seminars in Liver Disease**, New York, v. 28, n.4, p. 386-395, Nov. 2008.

YOUNOSSI, Z. M.; GRAMLICH, T.; BACON, B. R. et al. Hepatic iron and nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, Baltimore, v. 30, n. 4, p. 847-850, Oct. 1999.

Anexo A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP
Av. João Naves de Ávila, nº 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4531/4173; e-mail: cep@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº 190/08 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEP/UFU: 065/08

Projeto Pesquisa: "Doença hepática gordurosa não alcoólica: Correlação entre achados ultra-sonográficos anatomopatológicos e clínico-laboratoriais".

Pesquisador Responsável: Angélica Lemos Debs Diniz

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

O CEP/UFU lembra que:

- a- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.
- c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução 196/96/CNS, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Data para entrega Relatório Parcial: março/2009

Data para entrega Relatório Final: fevereiro de 2010.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

Uberlândia, 30 de maio de 2008.

Prof. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado
Coordenadora do CEP/UFU

Orientações ao pesquisador

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel de o pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista no cronograma do projeto, conforme norma da Res. 196/96 CNS.

Anexo B - Protocolo de avaliação histológica

Item	Definição	Escore
Esteatose		
Grau - Envolvimento do parênquima pela esteatose	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Localização Padrão de distribuição predominante	Zona 3	0
	Zona 1	1
	Azonal	2
	Panacinar	3
Fibrose Estadio	Ausente	0
	Perissinusoidal ou periportal	1
	Perissinusoidal, Zona 3, leve	1A
	Perissinusoidal, Zona 3, moderada	1B
	Portal/periportal	1C
	Perissinusoidal e portal/periportal	2
	Fibrose em ponte	3
	Cirrose	4
Inflamação lobular Avaliação global de todos os focos inflamatórios	Nenhum foco	0
	<2 focos por campo de 200x de aumento	1
	2-4 focos por campo de 200x de aumento	2
	> 4 focos por campo de 200x de aumento	3
Inflamação portal Avaliada com baixa magnificação	Nenhuma a mínima	0
	Maior que mínima	1
Balonização	Nenhuma	0
	Poucas células balonizadas	1
	Muitas células balonizadas	2
Hialinos de Mallory	Visíveis com coloração de rotina	
	Nenhum a raros	0
	Muitos	1
Núcleos glicogenados	Nenhum a raros	0
	Muitos	1
Classificação diagnóstica	Sem esteatohepatite	0
	Possível/Boderline	1
	Esteatoepatite definida	2

Quadro 2 - Definição e escores adaptado de *NASH Clinical Research Network Scoring System*.

Fonte: adaptado de KLEINER, BRUNT, VAN NATTA et al., 2005.