



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA

Karelín Alvisi Cavallari

*Influência da vitamina D sérica na
adiponectina, visfatina e resistina nas alterações
histológicas no fígado de pacientes com doença
hepática gordurosa não alcoólica.*

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Mestre em Fisiopatologia em Clínica
Médica .

Orientador: Prof. Dr. Sergio Alberto Rupp de Paiva

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Caramori

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Ferreira Minicucci

Botucatu

2016

Karelin Alvisi Cavallari

Influência da vitamina D sérica na adiponectina,
visfatina e resistina nas alterações histológicas no
fígado de pacientes com doença hepática
gordurosa não alcoólica.

Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção do
título de Mestre em Fisiopatologia em
Clínica Médica.

Orientador: Prof..Dr. Sergio Alberto Rupp de Paiva

Coorientador: Prof. Dr Carlos Antonio Caramori

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Ferreira Minicucci

Botucatu

2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Cavallari, Karelín Alvisi.

Influência da vitamina D sérica na adiponectina, visfatina e resistina nas alterações histológicas no fígado de pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica / Karelín Alvisi Cavallari. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Sergio Alberto Rupp de Paiva
Coorientador: Carlos Antonio Caramori
Coorientador: Marcos Ferreira Minicucci
Capes: 20702000

1. Vitamina D. 2. Fígado - Doenças. 3. Nicotinamida fosforribosiltransferase. 3. Adiponectina. 4. Resistina.

Palavras-chave: Adiponectina; Doença hepática gordurosa não alcoólica; Resistina; Visfatina; Vitamina D.

Karelin Alvisi Cavallari

Influência da vitamina D sérica na adiponectina,
visfatina e resistina nas alterações histológicas no
fígado de pacientes com doença hepática
gordurosa não alcoólica.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Alberto Rupp de Paiva

Comissão examinadora

Prof. Dr. Sergio Alberto Rupp de Paiva

ProfDr. Giovanni Faria Silva

Prof Dra. Cláudia P.M.S. de Oliveira

Dedicatória

Aos meus pais, Laércio e Lucimar, que acreditaram em mim, apoiaram minhas decisões e foram meu consolo sempre. Vocês são minha base, o melhor de mim.

À minha melhor amiga e coincidentemente irmã, Kelin, por acreditar em mim mais do que eu mesma, por saber quem eu sou melhor do que eu mesma, por todo apoio e incentivo. E também por ter aberto minha mente para o mundo do pacote Office! Rs

Dedicatória especial

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Andrade Chagas (*in memoriam*), cuja ida foi uma triste perda para a Nutrição como ciência, para o Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu e para os alunos que não tiveram a oportunidade de ser contagiados pelo seu amor pela nutrição.

Sou grata por ter plantado em mim a sementinha da pesquisa e da nutrição baseada em evidência.

Por ter me ensinado que dar um passo atrás não é necessariamente voltar, pode ser um impulso para ir mais longe.

Agradecimientos

À Deus, que ilumina os meus caminhos.

Aos médicos do Ambulatório da Hepatologia Geral e das Unidades Básicas de Saúde, pelo encaminhamento dos pacientes. Em especial ao Dr. Durval, pela paciência e dedicação ao projeto.

Ao Ilmo Sr Cláudio Lucas Miranda, secretário de saúde do Município de Botucatu, por ter aprovado o recrutamento dos sujeitos de pesquisa nas Unidades Básicas de Saúde deste município.

Ao Prof. Dr. Fernando Romeiro, pela paciência ao ensinar, pela enorme boa vontade em ajudar. Um grande exemplo de dedicação, competência e amor pelo que faz.

À Prof. Dra. Silvia Papini, pelo encaminhamento e ensinamentos. Simplesmente por ser um grande exemplo como nutricionista e pessoa querida.

À Prof. Dra Paula Gaiolla, pela oportunidade do estágio docência, por todo conhecimento e experiência compartilhados.

Ao Dr. Marcelo Padovani e à Dra. Larissa, pela dedicação e cuidado na classificação da histologia hepática e na realização das análises, respectivamente.

Às minhas amigas de Botucatu da Republica Toatoa, em especial à Juliana (Presepera) e Isabela (Banha), pela leveza do nosso amor, por todas as alegrias e angústias compartilhadas.

Às nutris “da gastro” Laís (Tabéfe), Mariana e Lívia, pela amizade e apoio. Em especial à Laís, pelo carinho e exemplo de dedicação.

Aos queridos, Renan Vericondo (Miss) e Mariana (Tina), por todo apoio desde o começo dessa empreitada, o mestrado.

Às funcionárias da Unidade de Pesquisa Clínica (UPECLIN), em especial à Dani, Su, Karen, Paola e Sil, pela paciência, dedicação e carinho.

Aos funcionários da Unidade de Pesquisa Clínica (UNIPEX), em especial à Dra. Elenize e ao Igor, por todo apoio e ajuda.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Médica, pelo suporte e dedicação.

Aos funcionários do Programa de Pós Graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica e da Biblioteca, pelo auxílio e atenção sempre que foi preciso.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Agradecimentos especiais

Ao meu orientador Prof. Dr. Sérgio Alberto Rupp de Paiva e aos co-orientadores Prof. Dr. Marcos Ferreira Minicucci e Prof.Dr. Carlos Antônio Caramori, por acreditarem em mim e me acolherem quando fiquei sem chão.

Ao Prof.Dr. Sérgio, por todo suporte e ensinamentos no decorrer do projeto. Por ser um grande exemplo de dedicação, conhecimento e amor pela medicina, por todas as tardes “desenhando” estatística, pela imensa paciência. Serei eternamente grata!

Ao Prof.Dr. Marcos, pela enorme paciência em ensinar, pelo suporte no decorrer do projeto. Por ser um grande exemplo como docente pelo amor, dedicação e competência.

Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Carlos Antônio Caramori, por ter me apoiado e encaminhado quando perdi o chão. Por estar sempre com a porta aberta para ensinar, aconselhar e auxiliar no processo de amadurecimento profissional e pessoal.

“O não saber é a musa do saber.”

(Marcelo Gleiser)

Resumo

CAVALLARI, KA. **Influência da vitamina D sérica na adiponectina, visfatina e resistina nas alterações histológicas no fígado de pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica.** 2016. 140f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é um conjunto de desordens caracterizado pela esteatose macrovesicular no consumo de álcool insuficiente para causar lesão hepática. A disfunção do tecido adiposo e a alteração no padrão de citocinas têm de destaque no desenvolvimento da doença, especialmente a adiponectina, visfatina e resistina. Além disso, a vitamina D parece modular a expressão de citocinas, podendo influenciar o desenvolvimento da doença. O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação das alterações histológica com a concentração sérica de adiponectina, visfatina, resistina e vitamina D em pacientes com DHGNA. Foram recrutados 82 pacientes com DHGNA. Foi realizada anamnese clínica e nutricional, avaliação antropométrica e de composição corporal, consumo alimentar, biomarcadores da DHGNA, dosagens séricas de adiponectina, visfatina, resistina, 25hidrovitamina D e biópsia hepática em todos os pacientes no intervalo de no máximo 3 meses. Foi observado na amostra 83% dos pacientes do sexo feminino, maioria branco,s 79% sedentários e 96% obesos. Verificamos associação da adiponectina como fator protetor para fibrose (OR:0,88; 95% CI0,78-1; p=0,05) e da visfatina como fator de risco para fibrose perisinusoidal (OR:2,66; 95% CI:1,3-5,44; p=0,007) e fibrose (OR:2,96; 95% CI1,19-7,35; p=0,02). Em relação à VD, observamos a presença de hipovitaminose D em 60% dos pacientes; com influência da concentração sérica de VD na visfatina como fator de proteção para apresentar EHNA (OR: 0,84; 95% CI:0,73-0,979; p=0,025) e na resistina como risco para apresentar inflamação lobular (OR:1,13; 95% CI:1-1,28; p=0,051). As adipocinas estão associadas às diferentes alterações histológicas que caracterizam a DHGNA. O aumento da concentração sérica de adiponectina está associado à redução de fibrose na biopsia hepática. O aumento da concentração sérica de visfatina está associado ao aumento da fibrose perisinusoidal e fibrose na biópsia hepática. A vitamina D

influencia a visfatina de modo a proteger o aparecimento de EHNA. Com relação à resistina, a vitamina D influenciou maior aparecimento de inflamação lobular. Desta forma, a vitamina D influencia de modo diferente as adipocinas nos achados histológicos da DHGNA.

Palavras chave: doença hepática gordurosa não alcoólica, esteatose hepática, esteato-hepatite, adiponectina, visfatina, resistina, vitamina D.

Abstract

CAVALLARI, KA. **Influence of serum vitamin D in adiponectin, resistin or visfatin in liver histological changes of non-alcoholic fatty liver disease patients.** 2016. 140f. Thesis (Master) – Faculty of Medicine of Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a spectrum of disorders characterized by macrovesicular steatosis without enough alcohol to cause liver damage. The adipose tissue dysfunction and the adipokines pattern changes have been emphasized in non-alcoholic fatty liver disease development, especially adiponectin, resistin and visfatin. In addition, vitamin D may modulate the expression of adipokines, therefore influencing the disease development. The aim of the study was to evaluate the association of serum adiponectin, visfatin, resistin and vitamin D with histological changes in NAFLD patients. Thus, 82 NAFLD patients were enrolled. Nutritional and clinical anamneses, diet, physical activity, anthropometric parameters, a set of biomarkers related to NAFLD were evaluated within a range of 3 months. Out of the 82 patients, 83% were female, most of them whites, 79% sedentary and 96% obese. Adiponectin has been associated as a protective factor for fibrosis (OR: 0.88; 95% CI 0,78-1; $p = 0.05$); while visfatin as a risk factor for perisinusoidal fibrosis (OR: 2.66; 95% CI : 1.3 to 5.44; $p = 0.007$) and fibrosis (OR: 2.96; 95% CI 1,19-7,35; $p = 0.02$). Vitamin D deficiency was observed in 60% of patients. Vitamin D influences visfatin as a protective factor for non-alcoholic steato-hepatitis (NASH) (OR: 0.84; 95% CI: 0.73 to 0.979; $p = 0.025$) and resistin as a risk factor for lobular inflammation (OR: 1.13, 95% CI: 1-1.28; $p = 0.051$). Adipokines are associated with NAFLD hepatic histological changes. Increased adiponectin reduces hepatic fibrosis. Increased visfatin increases hepatic perisinusoidal fibrosis and fibrosis. Vitamin D influences visfatin protecting NASH and influences resistin inducing lobular inflammation. Therefore, Vitamin D influences adipokines modulating NAFLD histological changes.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, steatosis, steatohepatitis, adiponectin, visfatin, resistin, vitamin D.

Lista de abreviaturas

µg	Micrograma
µg/ dL	Micrograma por decilitro
µg/d	Micrograma por dia
1,25VD	1,25-hidroxivitamina D
25VD	25-hidroxivitamina D
AdipoR1	Receptor de Adiponectipo tipo 1
AdipoR2	Receptor de Adiponectina tipo 2
AGL	Ácidos graxos livres
AGS	Ácido graxo saturado
akt	Proteína kinase B
ALT	Alanina amino transferase
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
AST	Aspartato amino transferase
BALL	Balonização
BX	Biópsia
CT	Colesterol total
DCNT	Doença crônica não transmissível
DHGNA	Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica
dL	Decilitro
DM	Diabetes melittus
dnLP	<i>de novo</i> lipogênese
EHNA	Esteato-hepatite não alcoólica
ES	Esteatose simples
ESTEAT	Esteatose
F	Feminino
F PERIS	Fibrose perisinusoidal
FA	Fosfatase alcalina
FIBR	Fibrose
g	Gramas
g/kgP	Gramas por quilograma de massa corporal
GGT	Gama glutamil transferase
HAS	Hipertensão
HB	Hepatite B
HC - FMB	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment Insulin Resistense
IMC	Índice de Massa Corporal
IMG	Índice de Massa Gordas
IMM	Índice de Massa Magra
kcal/kgP	Quilocaloria por quilograma de massa corporal
kg	Quilograma

L	Litro
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LOB	Atividade necro-inflamatória lobular
M	Masculino
MALL	Corpúsculo de Mallory
MEC	Matrix extra celular
MedHepatox	Medicamentos hepatotóxicos
MG	Massa gorda
min	Minuto
mL	Mililitro
MM	Massa magra
MUFA	Ácidos graxos mono-insaturados
N BALL	Ausência de balonização
N EHNA	Ausência de esteato-hepatite não alcoólica
N ESTEAT	Ausência de esteatose significativa
N F PERIS	Ausência de fibrose perisinusoidal
N FIBR	Ausência de fibrose
N LOB	Ausência de inflamação lobular
N MALL	Ausência de corpúsculo de Mallory
NAD	Nicotinamina adenina dinucleotídeo
NAMPT	Fosforibosiltransferase nicotinamida
NFκ - B	Fator de necrose <i>kappa</i> B
ng	Nanograma
ng/dL	Nanograma por decilitro
NO	Óxido nítrico
OST	Osteoporose
P	Peso: massa corporal em quilograma
PBEF	Fator de estimulação de colônias de células pré-B
PDX-1	Pancreatix duodenal homeoboc-1
pM	Picomolar
PPAR-α	Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissoma-α
PPAR-γ	Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissoma - γ
PPREs	Elementos Responsivos aos Proliferadores de Peroxissoma
PUFA	Ácidos graxos poli-insaturados
QFA	Questionário de Frequência Alimentar
QSol	Questionário de Exposição Solar
RE	Reticulo endoplasmático
RI	Resistência à Insulina
RXR	Receptor X retinóide
s	Segundo
SM	Síndrome metabólica

TAV	Tecido adiposo visceral
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TIMP	Inibidor de metaloproteinase tecidual
TLR-3	Toll like receptor-3
TLR-4	Toll like receptor-4
TNF - α	Fator de necrose tumoral α
UBS	Unidade Básica de Saúde
UI	Unidade internacional
US	Ultrassonografia
VD	Vitamina D
VDR	Receptor de vitamina D
VDRE	Elemento de resposta à vitamina D
VHC	Hepatite viral C

Sumário

Introdução	28
Hipótese.....	39
Objetivo	41
Casuística e métodos.....	43
Cálculo amostral	44
Delineamento	44
Critérios de Inclusão	46
Critérios de Exclusão.....	46
Coleta de dados	46
Anamnese e avaliação nutricional.....	47
Dosagens laboratoriais	48
Biópsia hepática.....	49
Análise estatística	53
Resultados	55
Caracterização da amostra	56
Variação da chance de apresentar os achados histológicos	72

Esteatose	72
Inflamação lobular	73
Balonização	79
Fibrose perisinusoidal	80
Fibrose	83
EHNA	87
Discussão	90
Conclusão	102
Referências	104
Anexos	127
Anexo 1 - Aprovação Comitê de ética em pesquisa	128
Anexo 2 – Recrutamento pacientes do ambulatório/ Unidades Básicas de Saúde	130
Anexo 3 - Aprovação secretaria da saúde	132
Anexo 4 – Termo de consentimento livre e esclarecido.	133
Anexo 5 - Protocolo DHGNA	135

Introdução

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é o conjunto de desordens metabólicas caracterizado pela esteatose macrovesicular na ausência de consumo de álcool suficiente para causar lesão hepática, ou seja, no máximo 20g de álcool por dia para mulheres ou 30g de álcool por dia para homens (Ludwig et al, 1980; Duvnjak et al, 2007). A prevalência da DHGNA pode variar de acordo com a amostra selecionada e com o método diagnóstico. Na população em geral pode ter variação de 6,3 a 33% (Vernon et al, 2011; Chalassani et al, 2012). Além disso, pode atingir 87% dos diabéticos (DM) (Leite et al, 2009) e 50% dos portadores de dislipidemia (DLP) (Assy et al, 2000; Chalassani et al, 2012).

A compreensão da anatomia hepática é essencial no entendimento e classificação dos achados histológicos da DHGNA. A unidade funcional do fígado é o lóbulo metabólico. O lóbulo metabólico está organizado na forma de um hexágono, com a veia centro lobular no centro e a tríade composta pela veia porta hepática, ducto biliar e artéria hepática em cada vértice. Cada lóbulo hepático é dividido em zonas de acordo com o fluxo de sangue e oxigênio: a Zona 3 envolve a veia centro lobular, a Zona 2 é intermediária e a Zona 1 é a parte mais externa, próxima ao início do fluxo sanguíneo (Colnot & Perret, 2011). Uma particularidade da DHGNA é o início da lesão próximo à Zona 3, o final do fluxo de oxigênio e nutrientes (Skoien et al, 2013, Takahashi & Fukusato, 2014).

Inicialmente, o mecanismo de desenvolvimento da DHGNA foi colocado com a hipótese dos “dois gatilhos” ou “*two hits*” (Day & James, 1998; Than & Newsome, 2015). O primeiro gatilho é a esteatose simples (ES): o acúmulo de triglicérides (TG) e ácidos graxos livres (AGL) nos hepatócitos. A ES ocorre devido ao desequilíbrio entre captação e metabolização de AGL via β -oxidação, e pode estar acompanhada de inflamação lobular discreta (LOB) (Day & James, 1998; Than & Newsome, 2015). O segundo gatilho é a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA): lesão hepática pelo aumento da peroxidação lipídica e disfunção mitocondrial. Na EHNA, a presença de inflamação lobular é mais evidente, com

possível balonização dos hepatócitos com ou sem corpúsculos de Mallory (MALL) e fibrose (FIBR) (Day & James, 1998; Brunt & Tiniakos, 2009; Takahashi & Fukusato, 2014; Than & Newsome, 2015). No entanto, recentemente a hipótese de “múltiplos gatilhos” ou “*multiple hits*” coloca a inflamação como chave para a esteatose e não necessariamente consequência para alguns pacientes (Tilg & Moschen, 2010; La Tijera et al, 2015; Than & Newsome, 2015).

Cada achado histológico tem características específicas. A inflamação lobular é o infiltrado de células inflamatórias diversas: linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e células de Kupffer (Brunt, 2002, Takahashi & Fukusato, 2014). A balonização ou degeneração hidrópica é o reflexo da lesão hepática: a alteração nos filamentos do citoplasma confere um aspecto rarefeito (Brunt et al, 2010, Takahashi & Fukusato, 2014). O corpúsculo de Mallory é a condensação de proteínas no citoplasma, visualizado como pequenas manchas de coloração mais densa (Takahashi & Fukusato, 2014). A fibrose, por sua vez é decorrente do desequilíbrio entre síntese e degradação da matriz extra-celular (MEC), com acúmulo de tecido fibroso e alteração da arquitetura hepática (Bataller & Brenner, 2005).

A evolução da DHGNA é regulada pelo *cross-talk* celular via mediadores e hormônios que controlam a atividade e função celular (Than & Newsome, 2015). O acúmulo de TG nos hepatócitos ativa as células de Kupffer via receptores toll-like-3 (TLR-3) e receptores toll-like-4 (TLR-4); com aumento de mediadores inflamatórios (Stienstra et al, 2010; Than & Newsome, 2015). Como consequência, a oxidação lipídica e a sensibilidade à insulina diminuem; o que ativa a cascata de depósito de colágeno e a liberação de fatores de crescimento de tecido conjuntivo e da MEC pelas células estreladas (Svegliati-Baroni et al, 1999; Malaguarnera et al, 2009; Angulo et al, 2015). Além disso, o hepatócito com esteatose libera mediadores solúveis que também ativam as células estreladas (Wobser et al, 2009). Esses fatores caracterizam o início do processo de fibrose (Svegliati-Baroni et al, 1999; Malaguarnera et al, 2009; Angulo et al, 2015). A deposição da MEC na fibrose é reversível até certo ponto, no entanto a cirrose é tecido cicatricial irreversível (Angulo et al, 2015).

Dentre os pacientes com ES, 10-20% evoluem para EHNA e 20% desses indivíduos evoluem para cirrose (Duvnjar et al, 2007).

O desenvolvimento e piora do quadro de pacientes com DHGNA parece ser devido à disfunção do refinado sistema de reparo do tecido hepático, a autofagia (Kotoulas et al, 2006; Cui et al, 2013; Koliaki & Roden, 2013; Schneider & Cuervo, 2014). A autofagia controla o balanço energético e a qualidade das células, protegendo contra o estresse do retículo endoplasmático (RE), inflamação e prevenindo a lesão hepática (Kotoulas et al, 2006; Jiang et al, 2010; Cui et al, 2013; Koliaki & Roden, 2013; Schneider & Cuervo, 2014). A regulação da autofagia é complexa e dependente de diversos fatores, dentre eles a idade (Cuervo & Dice, 2000; Schneider & Cuervo, 2014), o fluxo e tipo de ácidos graxos (AG) circulantes (Koga e Cuervo, 2010; Mei et al, 2011; Schneider & Cuervo, 2014), a insulina e o glucagon (Koliaki & Roden, 2013; Schneider & Cuervo, 2014). Com o avanço da idade (Cuervo & Dice, 2000; Schneider & Cuervo, 2014) e na resistência à insulina (RI), a autofagia é inibida (Liu et al, 2009; Schneider & Cuervo, 2014). A RI esta em destaque no desenvolvimento da DHGNA (Marchesini et al, 1999; Sanyal et al, 2001; Pagano et al, 2002; Duvnjar et al, 2007; La Tijera et al, 2015; Than & Newsome, 2015), e talvez a regulação da autofagia seja um dos mecanismos.

Outro mecanismo que envolve a RI no metabolismo hepático é devido ao fato de o fígado ser o mediador entre consumo e distribuição de substrato. A captação e utilização da glicose pelos hepatócitos são reguladas pelo sistema nervoso, pelo sistema porta, pela glicose e por hormônios (Bugianese et al, 2005). Especialmente pela insulina e o glucagon, que regulam as enzimas das vias metabólicas de utilização da glicose: glicólise, síntese de glicogênio e *de novo* lipogênese (dnLP) (Eissing et al, 2013; Bugianese et al, 2005). O desequilíbrio nesse processo leva ao aumento de TG na corrente sanguínea, aumentando a síntese e secreção de VLDL, hipertrigliceridemia hepática e ES (Postic & Girard, 2008; Tilg & Moschen, 2010; Berlanga et al, 2014). A desregulação da dnLP é observada em indivíduos

obesos e com DHGNA (Shulman, 2014; Than & Newsome, 2015). Inclusive, 60-95% dos pacientes com DHGNA são obesos e nos portadores de obesidade grau III a frequência de DHGNA pode atingir 95% dos pacientes (Vernon et al, 2011; Chalassani et al, 2012).

A obesidade é consequência do desequilíbrio energético e tem como consequência disfunção do tecido adiposo (Bugianese et al, 2005; Sun et al, 2011; Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015; Laforest et al, 2015). A disfunção do tecido adiposo aumenta a RI, a dnLP e altera o perfil de síntese e secreção de adipocinas em todos os tipos celulares, de forma proporcional ao nível de disfunção do adipócito (Silha et al, 2003; Bugianese et al, 2005; Pagano et al, 2006; Duvnjak et al, 2007; Aller et al, 2008; Berlanga et al, 2014; Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015).

Por definição, adipocinas são substâncias produzidas e secretadas pelo tecido adiposo, especialmente o tecido adiposo visceral (TAV), com ação autócrina, parácrina ou endócrina (Lehr et al, 2012; Fasshler & Bluher, 2015). Indivíduos magros sintetizam preferencialmente adipocinas anti-inflamatórias e indivíduos obesos sintetizam especialmente adipocinas inflamatórias (Jarrar et al, 2007; Bluher & Mantzoros, 2015; Fasshler & Bluher, 2015; Travers et al, 2015). Algumas adipocinas têm se destacado como potencial link entre o tecido adiposo, a inflamação e comorbidades metabólicas e cardiovasculares em indivíduos com excesso de peso e DHGNA. Dentre elas a adiponectina, visfatina e resistina.

A adiponectina é sintetizada exclusivamente pelos adipócitos (Fisher et al, 2002; Piya et al, 2013), com concentração sérica inversamente associada com a obesidade, adiposidade visceral, DM e outras desordens metabólicas do excesso de peso (Spranger et al, 2003; Whitehead et al, 2006; Piya et al, 2013). A adiponectina parece agir basicamente por dois mecanismos: melhora da sensibilidade à insulina e da oxidação lipídica.

A atuação da adiponectina pode ser via ativação direta do receptor ativado por proliferador de peroxissoma- γ (PPAR- γ) (Zhu et al, 2008; Ghoshal & Bhattacharyya, 2015) e por vias indiretas, pela ativação dos seus receptores AdipoR1 e AdipoR2, presentes no músculo esquelético e no fígado, respectivamente (Yamauchi et al, 2003; Neumeier et al, 2005; Stojavljević et al, 2014). A ativação do PPAR- γ melhora a sensibilidade à insulina pelo aumento da captação de ácidos graxos pelo tecido adiposo, com aumento da captação de glicose pelo músculo (Zhu et al, 2008; Ghoshal & Bhattacharyya, 2015). A ação via receptores AdipoR1 e AdipoR2 aumenta a expressão do receptor ativado pelo proliferador de peroxissoma- α (PPAR- α) e ativa o fator de necrose *kappa* B (NF κ -B) e a proteína quinase ativada por mitógeno (AMPK). Esses fatores influenciam a função endotelial, a captação de glicose e a gravidade da DHGNA (Yamauchi et al, 2002; Yamauchi et al, 2003; Kadowaki & Yamauchi, 2005; Zhu et al, 2008; Xu et al, 2011; Ghoshal & Bhattacharyya, 2015).

A adiponectina é o principal modulador da expressão hepática do PPAR- α , que por sua vez modula a β -oxidação hepática e do músculo esquelético e a expressão das proteínas de transporte de AG. Além disso, a baixa atividade do PPAR- α parece influenciar a secreção de citocinas inflamatórias (Yamauchi et al, 2001; Yamauchi et al, 2002). No entanto, outros estudos são necessários para o entendimento do mecanismo de ação do PPAR- α no desenvolvimento e progressão da DHGNA. Apesar da menor concentração de adiponectina em indivíduos obesos em comparação a magros, a regulação da expressão ainda não está completamente entendida. Especialmente na DHGNA, a concentração de adiponectina parece estar menor nos pacientes em comparação aos controles (Barrar et al, 2007; Jiang et al, 2009; Dong et al, 2015).

A regulação da síntese e expressão e os mecanismos da visfatina ainda são recentes e contraditórios. Inicialmente a visfatina foi identificada como fator de estimulação de colônias de células pré-B (PBEF) de expressão na medula óssea, músculos e fígado (Samal et al, 1994; Dahal et al, 2012) e posteriormente foi identificada como o análogo

fosforibosiltransferase nicotinamida (NAMPT) no metabolismo da nicotinamina adenina dinucleotídeo (NAD) (Martin & Mulks, 2001; Rongvaux et al, 2002; Dahal et al, 2012). Porém, foi a associação da visfatina com o tecido adiposo que fez com que fosse classificada como adipocina alguns anos depois (Fukuhara et al, 2005).

Recentemente a expressão da visfatina também foi observada em outros tecidos além do TAV (Fukuhara et al, 2005); como macrófagos, células dendríticas e hepatócitos (Dahl et al, 2010; Garten et al, 2015). Apesar de a visfatina estar expressa preferencialmente nos adipócitos da gordura visceral, a expressão no tecido hepático (Fukuhara et al, 2005; Chen et al, 2007; Revollo et al, 2007; Dahal et al, 2012) esta associada com o desenvolvimento da obesidade, diabetes melitus (DM) e síndrome metabólica (SM) (Fukuhara et al, 2005; Chang et al, 2011; Garten et al, 2015).

A via da atuação da visfatina pode ser intracelular ou extracelular (Fukuhara et al, 2005; Dahal et al, 2012; Garten et al, 2015), com correlação positiva entre as concentrações (Dahal et al, 2012; Mori et al, 2014; Yang et al, 2014; Garten et al, 2015). No entanto, ainda não se sabe como a mesma molécula tem ações tão abrangentes (Fukuhara et al, 2005; Dahal et al, 2012; Garten et al, 2015).

A visfatina intracelular é essencial para o metabolismo e sobrevivência da célula pela atuação como catalizadora do NAD. O desequilíbrio desse mecanismo pode levar ao estresse oxidativo (EO), disfunção mitocondrial e apoptose (Dahal et al, 2012; Mori et al, 2014; Yang et al, 2014; Garten et al, 2015). Em relação à atividade extracelular, a visfatina parece mimetizar a insulina, induzindo a captação de glicose e diminuição da glicemia com a mesma eficiência que a insulina, porém sem alteração da concentração ao longo do dia. A visfatina parece compartilhar propriedades com a insulina tanto *in vitro* quanto *in vivo*, com papel importante na manutenção da homeostase da glicose. No entanto, o aumento da glicemia

parece diminuir a expressão hepática de visfatina (Fukuhara et al, 2005), um dos fatores que poderia explicar a baixa concentração sérica em pacientes com DHGNA em alguns estudos.

No entanto, a visfatina também apresentou efeito pró-inflamatório pela ativação do NFκ-B e aumento da síntese de fator de necrose tumoral α (TNF-α), fatores indutores de EO e disfunção mitocondrial (Romacho et al, 2009; Moschen et al, 2010; Garten et al, 2015) importantes no desenvolvimento de fibrose (Kukla et al, 2010). Em pacientes com DHGNA, a concentração de visfatina ainda é incoerente, alguns estudos observaram associação como fator de risco (Aller et al, 2009; Akbal et al, 2012, Bekaert et al, 2015) e outros como fator protetor (Dahl et al, 2010, Genc et al, 2013, Bekaert et al, 2015).

A resistina é um polipeptídeo sintetizado no humano pelas células mononucleadas do tecido adiposo e presente no plasma em duas formas. A isoforma de menor peso molecular esta presente na circulação em menor concentração, porém é mais bioativa (Steppan et al, 2001; Patel et al, 2004; Pagano et al, 2006; Stojavljević et al, 2014). A concentração da resistina parece ser diretamente proporcional à gordura corporal em indivíduos com excesso de peso, aumentada na DHGNA e maior nos indivíduos com EHNA do que naqueles com ES (Shilha et al, 2003; Jarrar et al, 2007; Jiang et al, 2009).

A resistina foi colocada por alguns autores como elo entre a obesidade e a inflamação, com aumento do EO, estresse RE e disfunção mitocondrial (Azuma et al, 2003; Degawa-Yamauchi et al, 2003; Lehrke et al, 2004; Zhou et al, 2013; Hsieh et al, 2014). Além disso, a resistina parece induzir à disfunção mitocondrial diretamente, diminuindo a efetividade da cadeia transportadora de elétrons e a liberação de ATP. Essa disfunção mitocondrial decorrente do aumento de resistina parece induzir o acúmulo de TG hepático (Zhou et al, 2013).

Apesar do nome resistina ter sido originado de “resistente à insulina”, o mecanismo de ação da resistina na RI ainda não esta bem elucidado (Steppan et al, 2001). A resistina

parece estar associada com a RI apenas em situações específicas, por exemplo, apenas no início do desenvolvimento da SM ativando a dnLP hepática e controlando o metabolismo lipídico periférico; sem interferência na SM estabelecida (Vázquez et al, 2008; Meshkani et al, 2009; Makni et al, 2013; Fuentes et al, 2013; Asterholm et al, 2014; Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015). Ainda que os mecanismos não estejam totalmente elucidados, a resistina parece ter ação oposta ao da adiponectina, apesar de ambas apresentarem estruturas químicas parecidas (Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015).

A expressão e secreção de adipocinas parecem estar associadas com a atividade imunomoduladora da vitamina D (VD) (Cohen-Lahav et al, 2006; Sadeghi et al 2006; White, 2008; Baeke et al, 2010; Borges et al, 2011; Trochoutsou et al, 2015), porém os mecanismos envolvidos na DHGNA ainda não estão completamente elucidados. A VD é um hormônio esteroide presente na natureza em duas formas que se diferenciam apenas pela cadeia lateral: (I) ergocalciferol (VD₂), sintetizado pelas plantas e (II) colecalciferol (VD₃) sintetizado na pele de mamíferos; encontrado em peixes e seus óleos, fígado bovino e ovos. Apesar das fontes alimentares, apenas 10-20% da necessidade de VD é obtida via alimentação; a principal fonte de VD é a exposição ao sol ou o uso de suplementos (Holick, 1996; Borges et al, 2011; Kwok et al, 2013; Trochoutsou et al, 2015).

O estímulo dos raios-ultravioleta na pele induzem à fotólise do 7-dehidrocolesterol em VD₃; que é então carregada por proteínas ligantes de VD até o fígado. No fígado, a VD₃ sofre uma hidroxilação no carbono 25 pela enzima 25-hidroxilase, tornando-se 25-hidroxivitamina D (25VD), o precursor imediato da VD ativa e marcador do estado nutricional da VD. A forma 25VD é transferida para inúmeras células, nas quais é hidroxilada sob ação da 1- α hidroxilase, formando a 1,25-hidroxivitamina D (1,25VD), a forma metabolicamente ativa. Essa segunda hidroxilação acontece especialmente nos rins, regulada por *feedback* negativo na modulação da 24-hidroxilase. A 24-hidroxilase promove a hidroxilação em

24,25hidroxivitamina D, um metabólito inativo que é catabolizado (Holick, 1996; Borges et al, 2011; Kwok et al, 2013; Trochoutsou et al, 2015).

Na célula, a VD pode ter ação genômica ou não-genômica (Hausler et al, 2011). A ação não-genômica é mais rápida do que a ação genômica, por ser mediada por proteínas de membrana e segundo mensageiros, como a AMPK e a monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) (Hausler et al, 2011; Trochoutsou et al, 2015). A ação genômica da VD é mediada por transcrição gênica; a 1,25VD liga-se com o receptor de vitamina D (VDR), um receptor da superfamília de receptores nucleares dos fatores reguladores da transcrição dos hormônios esteroides, ácido retinóico, hormônio tireoidiano e vitamina D. O VDR interage com o receptor X retinóide (RXR) formando o complexo heterodímero VDR-RXR, que por sua vez se liga ao elemento de resposta à vitamina D (VDRE); compondo um complexo que modula a transcrição de mais de 200 genes (Hausler et al, 1997; Dilworth & Chambon, 2001; McKenna & O'Malley, 2002; Kwok et al, 2013; Trochoutsou et al, 2015).

A VD modula a diferenciação de monócitos (Baeke et al, 2010; Borges et al, 2011), a diferenciação de linfócitos (Zhu et al, 2006; Borges et al, 2011), diminui a expressão de TLR-2 e TLR-4 (Sadeghi et al 2006; Borges et al, 2011) e inibe a ativação do NFκ-B (Cohen-Lahav et al, 2006; Borges et al, 2011). Dessa forma, a VD modula a resposta imune e síntese de citocinas (Borges et al, 2011). Além da atuação sistêmica modulando a inflamação, a VD também tem ação direta no fígado, pois o VDR está expresso nas células hepáticas (Barchetta et al, 2012).

No entanto, o papel da VD na DHGNA ainda esta sendo estudado. Diversos estudos destacam a deficiência de VD associada com a gravidade da doença (Targher et al, 2007; Barchetta et al, 2011; Jablonski et al, 2013; Kwok et al, 2013; Rhee et al 2013), porém outros não encontraram associação (Eliades et al, 2013; Jeong et al, 2014).

Em resumo, a DHGNA é um espectro de desordens metabólicas associadas com o excesso de peso, RI e inflamação. Essa tríade da obesidade está intimamente ligada com os marcadores inflamatórios originados no tecido adiposo, como a adiponectina, visfatina e resistina. A VD parece modular o sistema imune e a liberação de citocinas. Talvez esse hormônio esteroide esteja envolvido na síntese e secreção das adipocinas em pacientes com DHGNA, modulando o desenvolvimento dos achados histológicos da doença.

Hipótese

A vitamina D influencia a ação das adipocinas nas alterações histológicas que caracterizam a doença hepática gordurosa não alcoólica.

Objetivo

Objetivo geral:

Avaliar associação das alterações histológicas (esteatose, inflamação lobular, balonização, fibrose perisinusoidal, fibrose, esteato-hepatite) com a concentração sérica de adiponectina, visfatina, resistina e vitamina D em pacientes com DHGNA.

Objetivos específicos:

- Caracterizar pacientes com DHGNA.
- Verificar a antropometria, composição corporal e consumo alimentar de pacientes com DHGNA.
- Verificar a concentração sérica de enzimas hepáticas e exames bioquímicos em pacientes com DHGNA.
- Verificar a concentração sérica de adipocinas e vitamina D em pacientes com DHGNA.

Casuística e métodos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) de nossa instituição em 2 de abril de 2012 (Protocolo CEP 4140-2012). Todos os pacientes ou seus responsáveis legais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 1).

Cálculo amostral

Para o cálculo do tamanho amostral utilizamos a fórmula de Fisher e Belle, com as seguintes variáveis: prevalência de deficiência de vitamina D em pacientes com DHGNA de 60%, com intervalo de confiança 95% e erro amostral de 6%. O resultado foi de 131 pacientes.

Delineamento

Foi realizado um estudo transversal. Os pacientes foram encaminhados do Ambulatório de Hepatologia Geral do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC-FMB) e das Unidades Básicas de Saúde (UBSs) de Botucatu após aprovação do Ministério da Saúde de Botucatu (Anexo 2 e 3). O atendimento e coleta de sangue foram realizados na Unidade de Pesquisa Clínica (UPECLIN), a ultrassonografia (US) e a biópsia hepática (BX) foram realizadas no HC-FMB. A Figura 2 explica o delineamento dos procedimentos realizados no estudo e o intervalo de tempo máximo entre cada etapa e a Figura 3 detalha as razões pelas quais os pacientes foram excluídos desde a triagem e primeira consulta até a confirmação do diagnóstico.

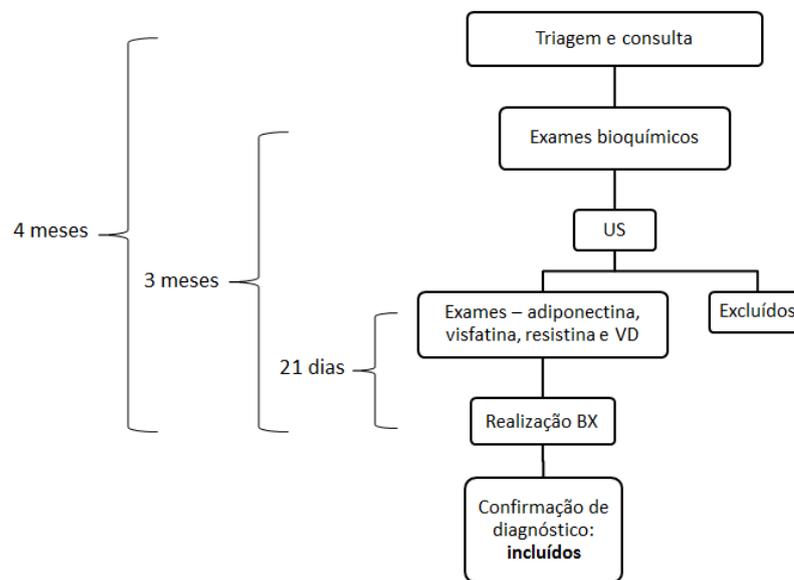


Figura 2. Delineamento dos procedimentos realizados e intervalo de tempo máximo entre cada etapa. US: ultrasonografia; VD: vitamina D; BX: biópsia hepática.

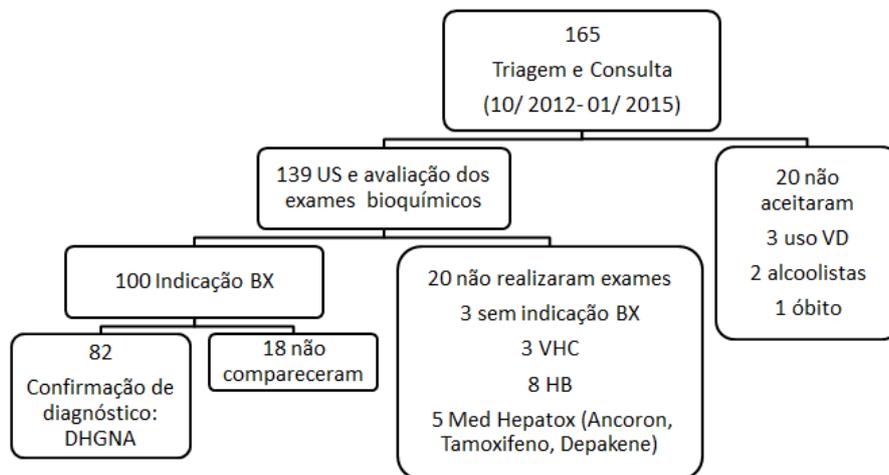


Figura 3. Delineamento do estudo baseado nos critérios de exclusão e na confirmação do diagnóstico de DHGNA. US: ultrasonografia; VD: vitamina D; BX: biópsia hepática; VHC:

hepatite viral tipo C; HB: hepatite B; Med Hepatox: medicamentos hepatotóxicos; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica.

Critérios de Inclusão

- ✓ Adultos (faixa etária entre 18 e 80 anos)
- ✓ DHGNA e classificados como não etilistas (consumo de etanol < 20 g/dia para mulheres e 30g/dia para homens)

Critérios de Exclusão

- ✗ Doenças crônicas que potencialmente alteram o metabolismo da VD como insuficiência renal crônica, câncer não tratado, insuficiência cardíaca descompensada, gestantes, lactantes e indivíduos que fazem uso de suplementos contendo VD.
- ✗ Portadores de outras doenças que podem alterar a histologia hepática como hepatite B, C, doença hepática alcoólica, doença colestática do fígado, deficiência de α -1 antitripsina, hemocromatose, doença de Wilson, abetalipoproteinemia.
- ✗ Uso atual de esteroides (anamnese).
- ✗ Uso de fármacos hepatotóxicos segundo classificação dos softwares Toxinet e Bioutox.

Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada pela pesquisadora. A avaliação clínica e o encaminhamento para realização dos exames laboratoriais, US e BX foram realizados por médico especialista.

Anamnese e avaliação nutricional

Foi utilizado protocolo próprio com dados demográficos (sexo, idade, escolaridade e etnia), medidas antropométricas (peso, estatura e circunferência abdominal (CA)), de composição corporal (bioimpedância elétrica), histórico pessoal (doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e prática de atividade física), questionário de frequência alimentar (QFA) e questionário de exposição solar (QSol) (Anexo 5).

Em relação à escolaridade, os pacientes foram classificados como Analfabetos (indivíduos que nunca estudaram ou não completaram o ensino fundamental - antiga 8ª série); Fundamental (indivíduos que completaram o ensino fundamental); Médio (indivíduos que completaram o ensino médio) e Superior (indivíduos com curso superior). A etnia foi considerada de acordo com o prontuário eletrônico, com classificação em branco e não branco.

Os dados antropométricos foram obtidos de acordo com os critérios propostos por Waitzeberg e Ferrini, 2001. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado conforme previamente descrito e classificado de acordo com a idade como proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Foi utilizada bioimpedância elétrica *Biodynamics 450*, de frequência única seguindo as recomendações do fabricante para aplicação da avaliação. Os valores de massa magra (MM) e de massa gorda (MG) foram diretamente calculados pelo aparelho de bioimpedância. O índice de massa magra (IMM) foi calculado a partir da massa magra absoluta em quilogramas (kg) dividida pelo quadrado da estatura (kg/m^2), os valores de referência de acordo com o sexo seguiu o Consenso Europeu de Sarcopenia (Cruz-Jentoft et al, 2010). A porcentagem de MG foi classificada de acordo com Pollock e Wilmore, 1993.

No histórico pessoal foi questionado sobre o diagnóstico de DCNT, como DM, DLP e hipertensão (HAS) e a prática de atividade física. As DCNT foram classificadas como presente ou ausente. Foram considerados indivíduos ativos aqueles que referiram praticar algum tipo

de atividade física (natação, hidroginástica, caminhada, exercício resistido, pilates) pelo menos 3 dias na semana com duração de no mínimo 1 hora por dia.

O consumo alimentar foi avaliado por QFA semi-quantitativo (Anexo 5). O cálculo dos nutrientes do QFA foi feito pelo programa NDS-R e a ingestão para avaliação do consumo de vitamina D foi corrigida pela energia segundo Willet & Stampfer. Foi utilizado como valor de referência para o consumo de VD a ingestão adequada (AI), de 10µg ao dia (µg/d) (DRIs, 2005). O consumo energético e proteico foram avaliados de acordo com a massa corporal em kg. Além disso, foi realizada avaliação do consumo alimentar baseada no número de porções de acordo com a Pirâmide alimentar adaptada para população brasileira (Philippi, 2013).

A exposição solar foi avaliada através do cálculo do índice de exposição solar a partir da aplicação do QSol (Palacios et al, 2012). O questionário apresenta 6 questões, abrangendo a frequência e tempo de exposição solar, tipo de vestimentas utilizadas, uso de filtro solar, fator de proteção e capacidade de bronzear-se ou queimar-se após a exposição. O escore de exposição solar pode variar de 0 (não exposição solar, elevado uso de roupas/protetor solar quando ao ar livre, nunca queima/bronzeia) à 38 (elevada exposição solar, roupas leves/não utilização de protetor solar quando ao ar livre, queima facilmente, nunca bronzeia) (Anexo 5).

Dosagens laboratoriais

Para a dosagem de alanina amino transferase (ALT), aspartato amino transferase (AST), gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), glicemia de jejum, albumina, colesterol total (CT), triglicérides (TG) e colesterol de alta densidade (HDL) foi utilizado o método de química seca. A insulina de jejum foi dosada pelo método de quimioluminescência. O HOMA-IR foi calculado pela fórmula $HOMA-IR = [glicose (nmol/L) *$

insulina ($\mu\text{U}/\text{mL}/22.5$], utilizando a glicose de jejum (Matthews et al, 1985) e classificado de acordo com o IMC (Ghiringhello et al, 2006) como presença ou ausência de RI.

Dosagens das citocinas inflamatórias e 25VD

As amostras foram coletadas por técnica em enfermagem experiente, utilizando tubo seco com gel envolto com papel alumínio. Imediatamente foram transportadas em isopor com gelo até a Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX). Para separação do soro, os tubos foram centrifugados em centrífuga *Eppendorf* refrigerada durante 15 minutos a 3000rpm e 4°C. As alíquotas de 500 μL do soro sobrenadante foram pipetadas em tubos *eppeendorf* e congeladas a – 80°C até realização das dosagens.

Dosagens de adiponectina, visfatina e resistina

Foram utilizados kits ELISA da Biovision para humanos. Os reagentes foram preparados e o procedimento realizado segundo informações do fabricante para cada dosagem.

Dosagem da 25VD

As concentrações de 25VD no soro foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), as amostras foram preparadas e o procedimento foi realizado segundo indicações do fabricante do sistema *Chromsystems*. Foi considerado o ponto de corte para 25VD como deficiência <20 ng/dL; insuficiente 21-29 ng/dL e adequado 30-50 ng/dL de acordo com o *Institute of Medicine*.

Biópsia hepática

A biópsia hepática foi realizada sob anestesia local utilizando-se punção com agulha aspirativa guiada por US na beira do leito. Os critérios e recomendações para o preparo e

período após a biópsia são adotados conforme o consenso da AASLD – *American Association for the Study of Liver Disease*. As amostras de tecido hepático foram encaminhadas para análise histológica pelo Departamento de Patologia do HC-FMB. A leitura das lâminas foi feita pelo mesmo médico patologista, de acordo com o score proposto por Mendler et al, 2005. (Tabela 1). A classificação da histologia hepática teve como objetivo refinar o diagnóstico de DHGNA, inclusive excluindo outras etiologias, por exemplo, a hepatite auto-imune (HAI) cujo achado histológico característico é a atividade inflamatória periportal. Em estudo anterior realizado no nosso serviço, 58% dos pacientes diagnosticados com DHGNA apresentaram auto-anticorpo positivo sendo que apenas 1 teve o diagnóstico de HAI confirmado pelo escore estendido do *International Group of Autoimmune Hepatitis* (Camargo, 2014). Dessa forma, os indivíduos que apresentaram auto-anticorpos positivo na ausência de alteração hepática característica de HAI não foram excluídos.

Tabela 1. Score de classificação da histologia hepática de acordo com os critérios de Mendler et al, 2005.

Fibrose portal

0 – Ausência de fibrose.

1 – Fibrose em alguns espaços porta, com ou sem fibrose septal.

2 – Fibrose na maioria dos espaços porta, com ou sem fibrose septal.

3 – Fibrose na maioria dos espaços porta, com ocasionais pontes porta-porta (P-P) e/ou central-porta (C-P).

4 – Fibrose na maioria dos espaços porta, com pontes P-P e/ou C-P evidentes.

5 – Pontes P-P e/ou C-P evidentes com nódulos ocasionais (cirrose incompleta).

6 – Cirrose possível ou definitiva

Inflamação lobular

Cada critério classificado 0 – 3:

Corpúsculo de Mallory**Balonização do hepatócito**

0 – Ausente.

1 – Envolvimento de alguns lóbulos.

2 – Envolvimento de diversos lóbulos.

3 – Envolvimento da maioria dos lóbulos, com maior danificação em alguns ou na maioria dos lóbulos.

Fibrose perisinusoidal

0 – Ausente

1 – Envolvimento perivenular e/ou periportal de alguns lóbulos.

2 – Envolvimento perivenular e/ou periportal da maioria dos lóbulos, sem deposição de colágeno intersticial difusa.

3 – Envolvimento perivenular e/ou periportal na maioria dos lóbulos, com fibrose intersticial envolvendo alguns ou a maioria dos lóbulos.

Esteatose

1 – <5% das células hepáticas envolvidas.

2 – 5 – 33% das células hepáticas envolvidas.

3 – 34 – 66% das células hepáticas envolvidas

4 – >66% das células hepáticas envolvidas

Adaptado de Mendler et al, 2005.

Para análise estatística cada critério de categorização foi reclassificado como *não presente* e *presente ou significativo*. Em relação à esteatose, foi considerado esteatose não significativa o envolvimento de até 33% do tecido hepático e esteatose significativa o envolvimento de pelo menos 34% do tecido hepático (Tabela 2).

Tabela 2. Classificação dos parâmetros histológicos.

Dados	Mendler	Classificação
Fibrose	0	N FIBR
	1 – 6	FIBR

Atividade necro-inflamatória lobular	0 1 – 3	N LOB LOB
Corpúsculo de Mallory	0 1 – 3	N MALL MALL
Balonização	0 1 – 3	N BALL BALL
Fibrose perisinusoidal	0 1 – 3	N F PERIS F PERIS
Esteatose	1 – 2 3 – 4	N ESTEAT ESTEAT

Critérios de classificação correspondentes segundo Mendler et al, 2005. N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N MALL: ausência de corpúsculo de Mallory; MALL: presença de corpúsculo de Mallory; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa.

Para classificação do escore da gravidade da doença e da EHNA foi utilizada a proposta de Kleiner e colaboradores considerando as alterações características; esteatose, inflamação lobular e balonização. Na soma dos critérios ≤ 4 o indivíduo foi classificado como não portador de EHNA (N EHNA) e na soma ≥ 5 foi classificado como portador de EHNA (Tabela 3) (Kleiner et al, 2005).

Tabela 3. Pontuação para classificação de EHNA

Item	Definição	Score/ código
Grau de esteatose	<5%	0

	5% - 33%	1
	>33% - 66%	2
	>66%	3
Inflamação lobular	Nada	0
	<2 pontos por 200x	1
	2 – 4 pontos por 200x	2
	>4 pontos por 200x	3
Balonização	Nada	0
	Raro	1
	Evidente	2

Adaptado de Kleiner et al, 2005.

Análise estatística

Na caracterização da amostra, as variáveis categóricas estão apresentadas em porcentagem e as variáveis contínuas foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para definição do modo de apresentação. As variáveis paramétricas estão apresentadas em média e desvio padrão e as variáveis não paramétricas em mediana e percentis.

Foram considerados seis desfechos: ESTEAT, LOB, BALL, F PERS, FIBR E EHNA. Cada desfecho foi estratificado em dois grupos, para comparação com as variáveis categóricas foram utilizados o teste χ^2 ou teste exato de Fisher e para as variáveis contínuas o teste t-Student ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição de normalidade.

Foi realizada de modo preliminar análise da correlação entre as variáveis que seriam incluídas nos modelos de regressão para evitar problemas de multicolinearidade. Assim,

houve correlação positiva entre a concentração de visfatina e número de leucócitos, motivo pelo qual o número de leucócitos foi excluído dos modelos de regressão. Para verificar a associação entre os desfechos com as adipocinas e as variáveis da VD foi feito teste de regressão logística. Foram construídos oito modelos para cada desfecho (ESTEAT, LOB, BALL, F PERS, FIBR E EHNA). O primeiro modelo consistiu em análise univariada. No segundo modelo, adicionamos a idade. Os outros modelos foram criados a partir de agrupamento de variáveis. No terceiro modelo, foram agrupadas as citocinas inflamatórias (adiponectina, resistina e visfatina) e idade. No quarto modelo estão as variáveis relacionadas com a vitamina D (VD, QSol e consumo de vitamina D) e idade; no quinto modelo, todas estas variáveis foram adicionadas; e nos últimos modelos, foram testadas as interações entre a 25VD e uma variável de citocina inflamatória por vez (resistina, adiponectina e visfatina). Não foi possível adicionar o sexo como variável de ajuste nos modelos de regressão devido ao pequeno número de pacientes do sexo masculino.

Foi utilizado o pacote estatístico *SigmaPlot for Windows* versão 12.0 (Systat Software, Inc) para as análises estatísticas e construção dos gráficos. Em todas as análises o nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$).

Resultados

A apresentação dos resultados foi organizada como caracterização da amostra e variação da chance de apresentar as alterações histológicas. A caracterização da amostra esta apresentada como todos os pacientes e de acordo com os achados histológicos. A variação da chance esta apresentada para cada achado histológico.

Caracterização da amostra

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados da classificação da histologia segundo Mendler em relação aos estágios de cada achado. Todos os pacientes foram classificados com algum grau de esteatose, sendo que 18% dos pacientes apresentaram o estágio mais avançado.

Tabela 4. Classificação da histologia hepática de pacientes com DHGNA segundo critérios propostos por Mendler et al, 2005.

Dados		Todos	Feminino	Masculino	<i>p</i>
Fibrose (0-6)	0	44(54%)	35 (51,5%)	9 (64%)	0,329
	1	13 (16%)	12 (18%)	1 (7%)	
	2	7(9%)	6 (9%)	1(7%)	
	3	12 (15%)	11 (16%)	2 (14%)	
	4	1(1%)	1(1,5%)	0	
	5	3(4%)	3 (4%)	0	
	6	1(1%)	0	1 (1%)	
Atividade	0	18 (22%)	15 (22%)	3 (21%)	0,916
Necro-inflamatória	1	54 (66%)	44 (65%)	10 (71%)	
Lobular	2	9 (11%)	8 (12%)	1 (7%)	
(0-3)	3	1 (1%)	1 (1%)	0	
Corpúsculo de Mallory (0-3)	0	80 (98%)	66 (97%)	14 (100%)	0,810
	1	1 (1%)	1 (1,5%)	0	
	2	1 (1%)	1 (1,5%)	0	
	3	0	0	0	

	0	8 (10%)	6 (75%)	2 (25%)	0,281
Balloning	1	64 (78%)	52 (81%)	12 (19%)	
(0-3)	2	10 (12%)	10 (100%)	0 (0%)	
	3		0	0	
	0	59 (72%)	50 (85%)	9 (15%)	0,276
Fibrose	1	11 (13%)	7 (64%)	4 (36%)	
Perisinusoidal (0-3)	2	9 (11%)	8 (89%)	1 (11%)	
	3	3 (4%)	3 (100%)	0 (0%)	
	0	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0,523
	1	4 (5%)	3 (75%)	1 (25%)	
Esteatose (0-4)	2	34 (41%)	27 (79%)	7 (21%)	
	3	26 (32%)	21 (81%)	5 (19%)	
	4	18 (22%)	17 (94%)	1 (6%)	

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica. Todos: toda a amostra estudada.

Já na classificação binária, em 44 pacientes (54%) foi verificado mais que 34% dos hepatócitos com acúmulo de TG (ESTEAT). Para as demais características, foi observado LOB em 78% dos pacientes, BALL em 90%, MALL em 2%, F PERIS em 28% e FIBR em 46%. Na categorização segundo Kleiner, 78% dos indivíduos foram classificados como portadores de EHNA com pelo menos 5 pontos. (Tabela 5).

Tabela 5. Classificação simplificada da histologia hepática de pacientes com DHGNA.

Dados	Todos
ESTEAT	44 (54%)
LOB	64 (78%)
BALL	74(90%)
MALL	2 (2%)
F PERIS	23 (28%)
FIBR	38 (64%)

EHNA 26 (32%)

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; Todos: toda a amostra estudada; ESTEAT: esteatose hepática significativa; LOB: presença de inflamação lobular BALL: presença de balonização; MALL: presença de corpúsculo de Mallory; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; FIBR: presença de fibrose; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Em relação às alterações da histologia hepática, nos pacientes com ESTEAT foi observado maior prevalência de LOB ($p=0,026$) e BALL ($p=0,001$) e nos pacientes com LOB ($p=0,026$) e BALL ($p=0,001$) maior prevalência de ESTEAT. Além disso, foi observada maior prevalência de FIBR nos pacientes com F PERIS ($p<0,001$) e maior prevalência de F PERIS nos pacientes com FIBR ($p<0,001$). Também foi observada nos pacientes com EHNA maior prevalência de LOB ($p=0,003$) (Tabela 6).

Tabela 6. Alterações da histologia hepática de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	ESTEAT	LOB	BALL	F PERS	FIBR	EHNA
Todos	44 (54%)	64 (78%)	74 (90%)	23 (28%)	38 (46%)	26 (32%)
N ESTEAT	-	25 (39%)	30 (41%)	11 (48%)	14 (37%)	0 (0%)
ESTEAT	-	39 (61%)	44 (59%)	12 (52%)	24 (63%)	26 (100%)
p	-	0,026	0,001	0,938	0,167	<0,001
N LOB	5 (11%)	-	14 (19%)	4 (17%)	6 (16%)	0 (0%)
LOB	39 (89%)	-	60(81%)	19 (83%)	32 (84%)	26 (100%)
p	0,026	-	0,066	0,744	0,325	0,003
N BALL	0 (0%)	4 (6%)	-	1 (4%)	1 (3%)	0 (0%)
BALL	44 (100%)	60 (94%)	-	22 (96%)	37 (97%)	26 (100%)
p	0,001	0,066	-	0,431	0,063	0,051

N F PERIS	32 (73%)	45 (70%)	52 (70%)	-	16 (42%)	21 (81%)
F PERIS	12 (27%)	19 (30%)	22 (30%)	-	22 (58%)	5 (19%)
p	0,938	0,744	0,431	-	<0,001	0,344
N FIBR	20 (50%)	32 (50%)	37 (50%)	1 (4%)	-	11 (42%)
FIBR	24 (50%)	32 (50%)	37 (50%)	22 (96%)	-	15 (58%)
p	0,167	0,325	0,063	<0,001	-	0,243
N EHNA	18 (41%)	38 (59%)	48 (65%)	18 (78%)	23 (61%)	-
EHNA	26 (59%)	26 (41%)	26 (35%)	5 (22%)	15 (39%)	-
p	<0,001	0,003	0,051	0,344	0,243	-

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Em relação aos dados demográficos, foi observado maior frequência do sexo feminino; com média da idade de 51 anos, sendo que os pacientes com ESTEAT eram mais jovens do que os N ESTEAT ($p=0,026$). Foi verificada baixa escolaridade sem diferença de acordo com a classificação dos achados histológicos. Além disso, a maioria dos nossos pacientes eram brancos (Tabela 7).

Tabela 7. Dados demográficos de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	Sexo	Idade	Escolaridade			Etnia
	Feminino	(anos)	Analfabeto	Fundamental	Médio Superior	Branco

Todos	68 (83%)	51 ± 11	24 (29%)	23 (29%)	22 (28%)	12 (14%)	77 (94%)
N ESTEAT	30 (79%)	54,5±11,6	12 (32%)	14 (37%)	7 (18%)	5 (13%)	35 (100%)
ESTEAT	38 (86%)	48,9 ±10,9	12 (27%)	9 (20%)	16 (36%)	7 (16%)	42 (95%)
p	0,551	0,026		0,21			1
N LOB	15 (83%)	51,8±9,55	3 (17%)	8 (44%)	4 (22%)	3 (17%)	17 (100%)
LOB	53 (83%)	51,4±12	21 (33%)	15 (23%)	19 (30%)	9 (14%)	60 (97%)
p	1	0,916		0,283			1
N BALL	6 (75%)	56,4 ±12,6	3 (37,5%)	1 (12,5%)	3 (37,5%)	1 (12,5%)	8 (100%)
BALL	62 (84%)	51±11,3	21 (28%)	22 (30%)	20 (27%)	11 (15%)	69 (97%)
p	0,619	0,211		0,734			1
N F PERIS	50 (85%)	51±11,6	19 (321%)	14 (24%)	20 (13%)	6 (26%)	57 (98%)
F PERIS	18 (78%)	52,9 ±11,4	5 (22%)	9 (39%)	3 (13%)	6 (26%)	2 (95%)
p	0,522	0,484		0,858			0,463
N FIBR	35 (79%)	50,6 ±11,9	12 (27%)	13 (29%)	15 (33%)	5 (11%)	43 (100%)
FIBR	33 (87%)	52,6±11	12 (32%)	10 (27%)	8 (22%)	7 (19%)	34 (94%)
p	0,561	0,436		0,553			0,204
N EHNA	43 (77%)	52,7±11,3	14 (25%)	19 (34%)	16 (29%)	7 (12%)	52 (98%)
EHNA	25 (96%)	49±11,7	10 (38%)	4 (15%)	7 (27%)	5 (19%)	25 (96%)
p	0,031	0,17		0,279			1

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Em relação às doenças crônicas não transmissíveis, 96% dos pacientes apresentaram pelo uma doença: a obesidade de acordo com a classificação do IMC. No entanto, apenas os pacientes com FIBR apresentaram diferença de acordo com a classificação dos achados histológicos, com maior prevalência de hipertensão. Os pacientes eram majoritariamente sedentários, sem diferença de acordo com a classificação dos achados histológicos (Tabela 8).

Tabela 8. Doenças crônicas não transmissíveis e prática de atividade física de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	Diabetes	Dislipidemia	Hipertensão	Obesidade	Inatividade física
Todos	31 (37%)	49 (60%)	51 (62%)	79 (96%)	65 (79%)
N ESTEAT	12 (32%)	21 (55%)	25 (66%)	35 (92%)	30 (79%)
ESTEAT	19 (43%)	28 (64%)	26 (59%)	44 (92%)	35 (79%)
p	0,394	0,586	0,693	0,165	0,794
N LOB	7 (39%)	12 (67%)	11 (61%)	16 (89%)	13 (72%)
LOB	24 (37,5%)	37 (58%)	40 (62%)	63 (98%)	52 (81%)
p	0,867	0,686	0,867	0,1	0,246
N BALL	2 (25%)	4 (50%)	7 (87%)	8 (100%)	5 (62%)
BALL	29 (39%)	45 (61%)	44 (59%)	71 (96%)	60 (81%)
p	0,704	0,708	0,248	0,845	1
N F PERIS	20 (34%)	35 (59%)	35 (58%)	57 (96%)	44 (75%)
F PERIS	11 (48%)	14 (61%)	16 (73%)	22 (96%)	21 (91%)
p	0,36	0,903	0,35	0,648	0,493
N FIBR	15 (33%)	26 (58%)	21 (47%)	43 (96%)	37 (82%)
FIBR	16 (43%)	23 (62%)	30 (81%)	36 (97%)	28 (76%)
p	0,489	0,86	0,003	0,654	0,21
N EHNA	22 (39%)	34 (61%)	35 (62%)	53 (95%)	44 (79%)
EHNA	9 (35%)	15 (58%)	16 (61%)	26 (100%)	21 (81%)
p	0,872	0,986	0,872	0,485	0,736

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; Todos: toda a amostra estudada; IMC: índice de massa corporal; OMS: organização mundial da saúde; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Em relação aos dados antropométricos, foram observados valores de IMC e CA maiores do que os valores de referência para indivíduos saudáveis, sendo que os pacientes com

ESTEAT apresentaram maiores valores de peso e os pacientes F PERIS apresentaram maiores valores de CA em comparação aos N ESTEAT ($p=0,016$) e N F PERIS ($p=0,035$) (Tabela 9).

Tabela 9. Dados antropométricos de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	Peso (kg)	IMC (kg/m ²)	CA (cm)
Valor de referência	-	Eutrofia 18,5 e 24,9kg/m ²	F<88 cm M<102 cm
Todos	81,3 (75,9-92,5)	33,3 (30,9- 36,1)	107 (102-114)
N ESTEAT	77,3 (70,7-90,3)	33,4 (29,8-36)	105 (100-114)
ESTEAT	84,7 (78,1-96,2)	33,3 (31,1-37,3)	108 (102-116)
p	0,016	0,427	0,137
N LOB	74,2(69,4-94,8)	31,8 (28,9-34,8)	104 (95,5-114)
LOB	83,6 (77,3-92,4)	33,8 (31,2-36,3)	108 (102-115)
p	0,059	0,123	0,262
N BALL	75,6 (70,9-87,6)	32,5 (30,6-33,6)	106 (98-111)
BALL	82,2 (76,2-93,9)	33,5 (30,8-36,4)	107 (102-115)
p	0,142	0,291	0,453
N F PERIS	79,6 (74,4-89,5)	32,8 (30,6-35,9)	105 (101-113)
F PERIS	89 (76-98,4)	35,5 (31,3-39,4)	112 (105-117)
p	0,133	0,066	0,035
N FIBR	79,7 (72,7-89,8)	33,0 (30-36,2)	104 (100-114)
FIBR	83,2 (77,5-94,8)	33,3 (32,1-36,3)	109 (105-114)
p	0,272	0,267	0,134
N EHNA	82,2 (72,2-93,4)	33,6 (30,6-36,2)	107 (101-114)
EHNA	80,9 (77,9-89)	33,2 (31-36,2)	106 (102-113)
p	0,858	0,932	0,738

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; CA: circunferência abdominal; kg: quilograma; kg/m²: quilograma por metro quadrado; cm: centímetros; F: sexo feminino; M: sexo masculino; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Em relação à composição corporal, os pacientes com F PERIS apresentaram menor valor de ângulo de fase em comparação aos N F PERIS ($p=0,010$) (Tabela 10).

Tabela 10. Composição corporal de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	MM (%)	IMM (kg/m ²)	MG (%)	IMG (kg/m ²)	AF (graus)
Valor de referência	-	F>6,76kg/m ² M>10,76kg/m ²	F: 26-28% M: 21-23%	-	-
Todos	63,4% (60-69,9)	21,4 (20,5-23,2)	36,6 % (30,1-39,9)	12,2 ±4,13	7,3±1 graus
N ESTEAT	64 (60,1-71,1)	21 (20,1-22,4)	35,8 (28,8-39,9)	11,9 (8,17-14,2)	7,34±1
ESTEAT	63,2 (59,5-68,2)	21,9 (20,7-23,4)	36,7 (31,8-40,5)	12,5 (9,73-14,3)	7,2 ±1
P	0,421	0,072	0,405	0,488	0,702
N LOB	63,4 (61,9-71,6)	20,9 (19,5-23,1)	36,6 (28,3-38)	11,4 (8,12-13,4)	7,1±0,88
LOB	63,4 (59,4-68,6)	21,5 (20,6-23,2)	36,6 (31,3-40,6)	12,6 (9,73-14,6)	7,36±1,02
P	0,53	0,166	0,545	0,285	0,286
N BALL	63,6 (61,4-69,2)	20,6 (19,7-21,7)	36,3 (30,8-38,6)	11,4 (8,9-13,4)	7,41±1,1
BALL	63,4 (59,4-69,9)	21,4 (20,6-23,3)	36,6 (30,1-40,5)	12,5 (9,5-14,6)	7,28±1
P	0,713	0,197	0,713	0,448	0,725
N F PERIS	64,2 (61,2-70,6)	21 (21,1-23,1)	35,8 (29,4-38,8)	11,9 (9,54-13,5)	7,47 ±1
F PERIS	60,3 (58,6-69,7)	21,8 (21-24)	39,7 (30,3-41,4)	14,1 (9,39-16,5)	6,85 ±0,83
P	0,1	0,122	0,111	0,072	0,010
N FIBR	64,2 (59,8-70,5)	21,1 (19,9-23,4)	35,8 (29,5-40)	11,3 (9,1-14,1)	7,41 ±0,94
FIBR	62,2 (59,6-67,3)	21,4 (20,6-23,2)	37,8 (32,7-40,4)	12,6 (10,6-14,5)	7,14 ±1,04
P	0,276	0,462	0,292	0,204	0,215
N EHNA	63,4 (59,4-71)	21,1 (20,4-23,9)	36,6 (29-40,6)	12,2 (8,42-14,5)	7,4 (6,7-8,1)
EHNA	63,6	21,7	36,3	12,4	7,05

	(60,4-67,4)	(20,6-23,1)	(32,5-39,6)	(9,79-13,7)	(6,57-7,62)
P	0,854	0,877	0,846	0,862	0,188

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; MM: massa magra; IMM: índice de massa magra; MG: massa gorda; IMG: índice de massa gorda; AF: ângulo de fase; kg/m²: quilograma por metro quadrado; cm: centímetros; F: sexo feminino; M: sexo masculino; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Em relação ao consumo alimentar diário em porções, foi observado elevado consumo de carnes e ovos, leguminosas, óleo, açúcares e doces. No entanto foi observado menor consumo de leite e derivados, frutas, hortaliças, tubérculos e raízes em número de porções de acordo com a pirâmide alimentar modificada. No entanto, foi observado diferença apenas no consumo de leite e derivados, maior nos pacientes com LOB em comparação aos N LOB ($p=0,007$) e de frutas menor para os FIBR em comparação aos N FIBR ($p=0,018$), ainda que abaixo do valor de referência em porções para ambos (Tabela 11).

Tabela 11. Consumo alimentar diário em porções de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	Tubérculos e raízes	Frutas	Carnes e ovos	Leguminosas	Hortaliças	Leite e derivados	Óleo	Açúcar e doces
Número de porções	6	3	1	1	3	3	1	1
Todos	4,42 (3,52-6,0)	2,0 (1,0-3,4)	3,1±1,7	2,5 (1,3-4,5)	2,5 (1,9-3,7)	2,03 (1,03-3,42)	4,4 (3,1-6,0)	2,9 (1,5-2,3)

N ESTEAT	4,42 (3,41-5,28)	2,41 (1,41-3,69)	2,65 (2,11-3,85)	2,31 (1,17-4,55)	2,68 (2,02-3,97)	1,94 (0,99-3,05)	4,2 (3,16-5,79)	2,58 (1,47-4,53)
ESTEAT	4,42 (3,54-6,49)	2,91 (1,44-4,65)	3 (1,94-4,11)	3,05 (1,39-4,61)	2,44 (1,82-3,46)	2,23 (0,94-3,82)	4,39 (3,12-6,2)	3,22 (1,46-6,52)
P	0,488	0,243	0,784	0,651	0,35	0,512	0,863	0,512
N LOB	3,73 (2,89-5,28)	3,83 (1,38-5,55)	2,67 (2,05-4,42)	2,04 (0,95-3,06)	2,67 (1,98-3,98)	1,05 (0,41-2,04)	3,73 (2,91-4,79)	2,4 (1,14-3,96)
LOB	4,5 (3,6-6,3)	2,6 (1,43-4,06)	3 (2,14-3,94)	3,88 (1,46-4,61)	2,48 (1,86-3,68)	2,36 (1,18-3,82)	4,49 (3,32-5,98)	3,2 (1,51-5,81)
P	0,094	0,491	0,634	0,158	0,579	0,007	0,118	0,28
N BALL	3,89 (3,63-4,65)	2,87 (1,28-4,24)	2,49 (1,22-3,64)	2,28 (1,74-2,93)	2,68 (2,46-3,46)	1,08 (0,53-2,76)	3,94 (3,5-5,28)	2,25 (1,85-3,33)
BALL	4,55 (3,4-6,22)	2,64 (1,46-4,24)	2,94 (2,12-4,11)	2,56 (1,17-4,6)	2,47 (1,85-3,77)	2,1 (1,1-3,56)	4,39 (3,12-6,01)	2,99 (1,43-5,34)
P	0,251	0,87	0,313	0,531	0,579	0,306	0,833	0,677
N F PERIS	4,13 (3,37-6,18)	2,75 (1,39-4,3)	2,71 (2,1-3,97)	2,56 (1,18-4,55)	2,5 (1,85-3,74)	1,97 (0,85-3,56)	4,31 (2,96-5,95)	2,63 (1,16-5,23)
F PERIS	4,95 (3,62-5,92)	2,43 (1,53-4,09)	3,13 (2,37-4,41)	2,56 (1,52-4,62)	2,92 (2,02-3,59)	2,33 (1,12-3,0)	4,41 (3,32-6,69)	3,26 (1,78-5,39)
P	0,577	0,613	0,577	0,552	0,951	0,91	0,397	0,375
N FIBR	4,16 (3,39-6,07)	2,75 (1,67-4,54)	2,99 (2,29-4,12)	4,24 (2,28-4,63)	2,61 (1,93-4,01)	1,95 (0,98-3,72)	4,40 (3-5,98)	3,29 (1,8-5,34)
FIBR	4,74 (3,57-6,1)	2,51 (1,24-3,76)	2,71 (1,96-3,91)	2,28 (1,13-4,55)	2,28 (1,1-4,55)	2,27 (0,97-3,09)	4,27 (3,24-6)	2,4 (1,0-4,3)
P	0,615	0,018	0,376	0,065	0,434	0,978	0,963	0,065
N EHNA	4,41 (3,46-5,91)	2,67 (1,44-4,21)	2,87 (2,13-4,19)	2,43 (1,24-4,63)	2,74 (2-4,04)	2 (0,93-2,98)	4,36 (3,14-5,72)	2,66 (1,47-4,66)
EHNA	4,49 (3,48-6,34)	2,64 (1,38-4,36)	2,83 (1,8-3,83)	3,04 (1,22-4,55)	2,29 (1,64-3,28)	2,07 (1,05-4,13)	4,34 (2,86-6,48)	3,6 (1,41-7,18)
P	0,846	0,709	0,428	0,814	0,099	0,446	0,901	0,372

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

No consumo alimentar quantitativo, foi observado elevado consumo energético em kcal por kg de massa corporal (kcal/kgP) em comparação à recomendação de 25-30kcal/kgP para manutenção do peso. Além disso, também foi observado elevado consumo de proteínas de acordo com a massa corporal (g/kgP). Porém, não foi observado diferença de acordo com a classificação dos achados histológicos (Tabela 12).

Tabela 12. Consumo alimentar diário quantitativo de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	Energia (kcal)	Energia (kcal/kgP)	Carboidrato (g)	Lipídeos (g)	Proteína total (g)	Proteína (g/kgP)	Vitamina D (µg/d)
Valor de referência	-	25-30	-	-	-	0,8	10
Todos	2722 (2094-3598)	48,7 (60,7-64,3)	396±63,0	98,4±18,2	128,5±5	1,49 (1,06-1,89)	3,12 (2,6-4,2)
N ESTEAT	2475 (1981-3643)	29 (24,3-43,6)	389±65,7	102±19,2	128±26,1	1,49 (1,09-1,84)	3,14 (2,79-4,22)
ESTEAT	2913 (2189-3570)	31,7 (24,9-43,1)	402±60,6	95,6±17	129 ±27,5	1,48 (1,02-1,93)	3,12 (2,46-4,35)
p	0,208	0,679	0,352	0,14	0,878	0,784	0,642
N LOB	2161 (1875-3063)	27 (22,4-34,2)	409±75,1	94,2±19,9	128±30,4	1,26 (1,06-1,84)	3,01 (2,46-3,32)
LOB	2858 (2209-3629)	33,2 (25,7-43,6)	393 ±59,4	99,6 ±17,6	129±25,8	1,57 (1,04-1,91)	3,39 (2,57-4,48)
p	0,053	0,135	0,35	0,265	0,868	0,572	0,113
N BALL	2152 (1997-2606)	27,6 (25,1-37,9)	387±52,2	106±21,3	124±21,7	1,28 (1-1,75)	3,06 (2,87-4,04)
BALL	2848 (2157-3610)	30,7 (24,5-44,2)	397±64,3	97,6±17,8	129±27,2	1,52 (1,08-1,91)	3,12 (2,54-4,39)
p	0,144	0,645	0,665	0,213	0,596	0,527	0,913
N F PERIS	2648 (2036-3639)	30,5 (24,6-45,4)	401±61,9	97,1±16,7	127±26,8	1,56 (1,09-1,91)	30,7 (2,57-4,46)
F PERIS	2858 (2400-3362)	29,8 (23,3-39,1)	384±65,6	102± 21,5	132±26,6	1,33 (1,01-1,89)	3,47 (2,46-4,17)
p	0,718	0,556	0,282	0,308	0,439	0,726	0,857
N FIBR	2837 (2078-3670)	30,3 (24,3-43,1)	398±67,7	97,4±18,9	129±25,6	1,5 (1,1-1,9)	3,06 (2,42-4,44)
FIBR	2648 (2073-3297)	29,8 (25,4-43,6)	394 ±57,6	99,6±17,4	127 ±28,3	1,4 (1-1,9)	3,3 (2,92-4,19)

P	0,434	0,849	0,755	0,59	0,762	0,7	0,282
N EHNA	2664 (2040-3482)	29,8 (24,3-42,5)	392±67,9	98,9±19	132±29	1,48 (1,1-1,89)	3,1 (2,58-4,14)
EHNA	2786 (2135-3658)	33,6 (24,7-45,6)	405±50,8	97,3 ±16,6	122 ±19,8	1,44 (0,98-1,92)	3,22 (2,53-4,42)
P	0,893	0,672	0,386	0,712	0,12	0,514	0,929

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; kcal: quilocaloria; kcal/kgP: quilocaloria por quilograma de massa corporal; g: grama; g/kgP: gramas por quilograma de massa corporal; µg/d: micro-grama por dia; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Foram observados 29 pacientes (35%) com pelo menos um auto-anticorpo positivo, porém sem alterações histológicas condizentes com o diagnóstico de HAI. Apenas um paciente apresentou alteração histológica característica de HAI, porém com auto-anticorpo negativo. Portanto, não foi excluído nenhum paciente devido ao diagnóstico de HAI.

Em relação às enzimas hepáticas (Tabela 13), na avaliação da amostra completa foram observados valores de ALT acima do ponto de corte para o sexo feminino, que basicamente compõe a amostra, sem diferença para as demais enzimas. Pacientes com ESTEAT ($p=0,007$), BALL ($p=0,005$), F PERIS ($p=0,036$) e EHNA ($p=0,006$) apresentaram maiores valores de AST em comparação aos não classificados com essas alterações da histologia hepática. Além disso, pacientes com ESTEAT e BALL apresentaram maiores valores de ALT em comparação aos N ESTEAT ($p=0,048$) e N BALL ($p=0,005$). Foi observada diferença na relação AST/ALT apenas para os pacientes com FIBR em comparação aos N FIBR ($p=0,039$).

Os valores da GGT (Tabela 13) estavam acima do valor de referência em 86% dos pacientes e maiores dos pacientes com ESTEAT ($p=0,018$), BALL ($p=0,016$) e F PERIS

($p=0,028$) em comparação aos pacientes não portadores das respectivas alterações da classificação histológica.

Tabela 13. Enzimas hepáticas de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	AST	ALT	AST/ALT	GGT	FA
Valor de referência	F<35U/L M<50U/L	F <35U/L M <50U/L	1	<25 U/L	20-105U/L
Todos	31 (24-43)	39 (30-56)	0,82 (0,67-1)	51,5 (31-97)	93 (97-109)
N ESTEAT	26 (21,7-38,2)	34 (27,7-53)	0,8 (0,67-1,06)	40 (23,5-86,2)	88,5 (71,2-104,7)
ESTEAT	33,5 (28-51,7)	46 (30,7-64,2)	0,83 (0,66-0,99)	56 (41,7-107)	101 (80-114)
p	0,007	0,048	0,9	0,018	0,114
N LOB	28 (22-36,7)	38,5 (27,2-57,7)	0,83 (0,68-0,97)	49 (27,7-79)	85,5 (72,2 -117)
LOB	32 (24-44,7)	39,5 (30-56,7)	0,82 (0,65-1)	52 (32,2-100)	94 (77-109)
p	0,246	0,453	0,897	0,553	0,637
N BALL	21,5 (20,2-27,2)	25 (14,5-36,5)	1,1 (0,68-1,23)	25,5 (22-45,5)	86,5 (75,5-105)
BALL	32 (25-46)	40 (30-60)	0,8 (0,67-0,96)	53 (36-98)	94 (76,5-110)
p	0,005	0,005	0,118	0,016	0,516
N F PERIS	29 (23-39)	38 (30-53)	0,79 (0,62-0,97)	45 (30-87)	91,5 (73,7-109)
F PERIS	41 (27-65)	41 (29-69)	0,87 (0,73-1,09)	70 (51-115)	98(85-111)
p	0,036	0,307	0,081	0,028	0,283
N FIBR	31 (23,5-39,5)	39 (31,5-53,2)	0,77 (0,63-0,94)	52 (31-104)	92,5 (77,5-108)
FIBR	30(23-51,25)	38(26,5-66)	0,87 (0,71-1,27)	51(33-87,5)	94 (76-112)
p	0,644	0,734	0,039	0,83	0,787
N EHNA	29 (22-38,7)	38 (29-53,7)	0,79(0,65-1)	48,5 (29-90)	92,5 (76-109,7)
EHNA	41,5 (28,7-65)	46 (32,2-77,5)	0,83 (0,71-1)	56 (44-105)	100 (78,5-11,5)
p	0,006	0,13	0,417	0,112	0,563

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; AST: aspartato amino transferase; ALT: alanina amino transferase; GGT: gama glutamil transferase; FA: fosfatase alcalina; U/L: unidade internacional por litro; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização;

BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Em relação ao perfil glicídico (Tabela 14), os pacientes apresentam hiperinsulinemia com glicose discretamente elevada, caracterizando quadro de resistência insulínica na classificação do HOMA-IR de acordo com o IMC, em 48% dos indivíduos. Foram observados maiores valores de insulina apenas para os pacientes com F PERIS ($p < 0,001$) e FIBR ($p < 0,001$) e de glicose apenas para os pacientes com BALL ($p = 0,008$). Os pacientes com ESTEAT ($p = 0,046$), BALL ($p = 0,03$), F PERIS ($p < 0,001$) e FIBR ($p = 0,004$) apresentaram maiores valores de HOMA-IR em comparação aos pacientes não portadores desses achados na classificação histológica, no entanto foi observado diferença na prevalência de RI apenas nos pacientes com F PERIS ($p = 0,007$) e FIBR ($p < 0,001$).

No perfil lipídico, os pacientes apresentaram valores de TG e LDL acima do ponto de corte e de HDL abaixo do ponto de corte para o sexo feminino, que basicamente compõe a amostra. No entanto, não foi observado diferença de acordo com a classificação dos achados histológicos (Tabela 14).

Tabela 14. Exames bioquímicos de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	Insulina	Glicose	HOMA-IR	RI	CT	TG	HDL	LDL
Valores de referência	<11U/L	< 100mg/dL	< 2,71		<200 mg/dL	< 150mg/dL	F>50mg/dL M>40mg/dL	<100 mg/dL
Todos	15,8 (11-20,5)	101 (90-113)	4,3 (2,5-6)	39 (48%)	199±36	179 (130-269)	43 (36-55)	113±34
N ESTEAT	15 (8,3-19,3)	99 (90-109)	4,01 (1,99-5,13)	14 (37%)	205±37,1	167 (127-248)	49,5 (36-56,2)	119±34
ESTEAT	16,4 (12-22,5)	105 (90,2-133)	4,85 (3,19-7,27)	25 (58%)	194±34,7	190 (131-334)	40,5 (34,2-50)	105 ±33,1

P	0,164	0,096	0,046	0,091	0,168	0,224	0,094	0,069
N LOB	15,4 (9-22,7)	96,5 (90,7-108)	4,2 (2,26-5,23)	8 (44%)	209±35	184 (152-283)	48 (32,2-52,7)	120±35,1
LOB	15,8 (11-20,2)	103 (90-118)	4,36 (2,62-6,42)	31 (49%)	196 ±36	179 (127-262)	41,5 (36-55)	109 ±33,5
P	0,704	0,416	0,368	0,929	0,178	0,44	1	0,209
N BALL	9,26 (5,64-18)	90,5 (79-97,2)	2,19 (1,34-4,03)	1 (12%)	189 ±26,2	153 (108-222)	48,5 (38-61,5)	106±23,8
BALL	16,4 (11,5-21,8)	105 (92,5-120)	4,38 (2,91-6,29)	38 (52%)	200 ±36,9	180 (131-285)	41,5 (35,7-54,2)	112±35
P	0,062	0,008	0,03	0,058	0,39	0,248	0,257	0,634
N F PERIS	13,9 (9,13-18,6)	101 (90-111)	3,59 (2,36-5,55)	22 (38%)	203 ±37,2	180 (131-263)	44 (37-55)	115±33,6
F PERIS	18,5 (16,5-32)	111 (93-131)	5,33 (4,32-9)	17 (74%)	189±31,6	170 (126-294)	41 (34-53)	103±34
P	<0,001	0,106	<0,001	0,007	0,123	0,871	0,309	0,143
N FIBR	12,9 (8,38-18-4)	101 (90-115)	3,59 (2,08-5,30)	12 (28%)	201 ±36,6	161 (127-226)	45 (36,5-57)	115±36,8
FIBR	16,8 (14,5-25,7)	102 (90,5-131)	4,83 (3,9-7,5)	27 (71%)	197±35,7	235 (142-297)	40 (34,5-52)	107±30,2
P	<0,001	0,904	0,004	<0,001	0,568	0,055	0,155	0,302
N EHNA	16,1 (9,35-21,9)	100 (90-112)	4,24 (2,36-6,26)	25 (45%)	201±35,7	178 (133-257)	45,5 (35,2-55)	116±35
EHNA	15,6 (12,2-20,7)	107 (32,2-131)	4,52 (3-6,24)	14 (56%)	195 ±37	195 (127-346)	41,5 (36,2-53,5)	102±30,2
P	0,736	0,26	0,43	0,481	0,433	0,571	0,712	0,099

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; RI: resistência à insulina; CT: colesterol total; TG: triglicérides; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; U/L: unidade internacional por litro; mg/dL: miligrama por decilitro; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose; FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

O ponto de corte para as adipocinas ainda esta em discussão. Os pacientes apresentaram adiponectina de 32,1±4,7 ng/mL, visfatina de 0 (0-0,36) ng/mL, sendo que apenas 37%

(n=30) dos indivíduos tiveram a concentração de visfatina maior que zero. Foi observado concentração de resistina de 1,16 (0,97-1,63) ng/mL. Foi observada diferença apenas nos pacientes com F PERIS, que apresentaram maior concentração de visfatina em comparação aos N F PERIS (p=0,012) (Tabela 15).

A mediana da VD observada foi na faixa de insuficiência, com concentração de 28,5 ng/dl; sendo que 60% dos pacientes apresentou hipovitaminose D. No entanto, pacientes com ESTEAT apresentaram maior concentração de VD em comparação aos N ESTEAT (p=0,041) (Tabela 15). Não foi observado associação com a gravidade da doença.

Tabela 15. Parâmetros inflamatórios e variáveis relacionadas ao estado nutricional da Vitamina D de pacientes com DHGNA de acordo com a classificação dos achados histológicos.

Dados	Adiponectina		Visfatina		Resistina (ng/ml)	Vitamina D (ng/mL)	Q Sol
	(ng/ml)	(ng/ml)	ZERO	>0			
Valor de referência	-	-	-	-	-	30-50 ng/dL	
Todos	32,06±4,7	0 (0-0,355)	52 (63%)	30 (37%)	1,16 (0,97-1,63)	28,5 (22,7-34,3)	12,4±4,45
N ESTEAT	31,9±4,53	0 (0-0,11)	27 (71%)	11 (29%)	1,15 (0,96-1,52)	26,3 (19,3-32,6)	12,4±5
ESTEAT	32,2 ±4,89	0 (0-0,761)	25 (57%)	19 (43%)	1,17 (0,99-1,66)	30 (25,1-38,9)	12,4±4
P	0,743	0,161	0,269		0,527	0,041	0,99
N LOB	32,3±3,9	0 (0-0,504)	11 (61%)	7 (39%)	1,19 (1,12-2,02)	28,6 (23,8-32,9)	13±5,09
LOB	32±4,9	0 (0-0,349)	41 (64%)	23 (36%)	1,13 (0,97-1,48)	28,5 (22,7-36)	12,2±4,28
P	0,762	0,979	0,962		0,175	0,834	0,49
N BALL	33,6 ±4,72	0 (0-0,130)	5 (62,5%)	3 (37,5%)	1,17 (1-1,8)	25,7 (19,6-33,6)	14,4±4,22
BALL	31,9 ±4,73	0 (0-0,556)	47 (63%)	27 (36%)	1,16 (0,97-1,63)	28,7 (22,7-34,8)	12,2±4,45
P	0,455	0,625	1		0,673	0,618	0,177
N F PERIS	32,4±4,6	0 (0-0,16)	42 (71%)	17 (29%)	1,16 (0,97-1,64)	28,7 (23-36,2)	12,5±4,48
F PERIS	31,2±0	0,05	10	13	1,18	26,9	12,2±4,47

		(0-1,15)	(43%)	(56%)	(0,97-1,63)	(21,3-34)	
P	0,335	0,012	0,037		0,893	0,499	0,799
N FIBR	32,6 ±4,48	0 (0-0,344)	29 (64%)	16 (36%)	1,18 (0,98-1,65)	28,7 (22,6-34,8)	13±3,88
FIBR	31,4 ±4,9	0 (0-0,691)	23 (62%)	14 (38%)	1,16 (0,96-1,49)	28,5 (22,7-34,3)	11,7±5
P	0,27	0,642	0,987		0,459	0,962	0,205
N EHNA	32,5±4,66	0 (0-0,3)	37 (66%)	19 (34%)	1,16 (0,96-1,63)	28,5 (21,8-34,8)	12,4±4,59
EHNA	31 ±4,74	0 (0-0,85)	15 (58%)	11 (42%)	1,17 (1-1,56)	28,5 (23,9-36,5)	12,4 ±4,24
P	0,196	0,324	0,626		0,69	0,624	0,944

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; ng/mL: nanogramas por mililitro; QSol: questionário de exposição solar; Todos: toda a amostra estudada; N ESTEAT: ausência de esteatose significativa; ESTEAT: presença de esteatose significativa; N LOB: ausência de inflamação lobular; LOB: presença de inflamação lobular; N BALL: ausência de balonização; BALL: presença de balonização; N F PERIS: ausência de fibrose perisinusoidal; F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal; N FIBR: ausência de fibrose FIBR: presença de fibrose; N EHNA: ausência de esteato-hepatite; EHNA: presença de esteato-hepatite.

Variação da chance de apresentar os achados histológicos

Esteatose

Não foi observado alteração na chance de apresentar esteatose para nenhuma das variáveis (Tabela 16).

Tabela 16. Variação da chance de apresentar esteatose significativa de acordo com os parâmetros inflamatórios, as variáveis da VD e a influência da VD nos parâmetros inflamatórios em pacientes portadores de DHGNA.

		Odds Ratio	IC 95%	p
Adiponetina	§	1	0,92 - 1,1	0,74

	*	1,01	0,92 -1,11	0,846
	**	0,99	0,9 -1,09	0,899
	***	0,98	0,88 -1,09	0,69
Visfatina	§	1,3	0,82 - 2,1	0,247
	*	1,23	0,76 - 2,01	0,385
	**	1,26	0,76 - 2,07	0,371
	***	1,28	0,78 - 2,09	0,337
Resistina	§	1,07	0,61 - 1,88	0,819
	*	1,14	0,64 - 2,03	0,651
	**	1,17	0,65 - 2,12	0,607
	***	1,33	0,69 - 2,54	0,392
VD sérica	§	1,04	1 - 1,08	0,072
	*	1,04	1 - 1,09	0,066
	#	1,04	1 - 1,09	0,07
	***	1,05	1 - 1,1	0,055
QSol	§	1	0,91 - 1,1	0,989
	*	1	0,9 - 1,1	0,966
	#	1,01	0,91 - 1,13	0,796
	***	1,01	0,91 - 1,13	0,804
VD consumo	§	0,93	0,71 - 1,23	0,636
	*	0,97	0,72 - 1,3	0,831
	#	1,06	0,78 - 1,15	0,695
	***	1,04	0,76 - 1,43	0,79
VD x adiponectina		0,99	0,98 - 1	0,137
VD x visfatina		0,95	0,87- 1,04	0,907
VD x resistina		0,94	0,87 - 1,03	0,168

VD: vitamina D; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; §: análise univariada; * ajustado para idade; ** ajustado para idade e parâmetros inflamatórios; # ajustado para idade e as variáveis da VD; *** ajustado para idade, parâmetros inflamatórios e as variáveis da VD. QSol: questionário de exposição solar.

Inflamação lobular

O aumento de 1µg no consumo de VD aumentou em 66% a chance de apresentar inflamação lobular (OR: 1,66; 95% CI:1,01-2,71; p=0,045) quando ajustado para idade e as outras variáveis da VD e 68% quando ajustado para idade, adiponectina, visfatina, resistina, Q Sol e 25VD (OR:1,68; 95% CI: 1,02-2,74; p=0,04) (Tabela 17 e Figura 4).

Em relação à influência da VD nos parâmetros inflamatórios, foi observado que fixando a visfatina, o aumento de cada 1 ng/dL de 25VD, diminui 16% a chance de apresentar inflamação lobular (OR:0,86; 95% CI:0,74-1; p=0,055) quando entraram no modelo: idade, resistina, adiponectina, visfatina, 25VD, Q Sol, VD consumo e produto da visfatina com 25VD (Tabela 17 e Figura 5). Por outro lado, foi observado que fixando a resistina, o aumento de cada 1 ng/dL de 25VD, aumenta 13% a chance de apresentar inflamação lobular (OR:1,13; 95% CI:1-1,28; p=0,051) quando entraram no modelo: idade, adiponectina, visfatina, resistina 25VD, Q Sol, VD consumo e produto da resistina com 25VD (Tabela 17 e Figura 6). Não foi observada influência no modelo com o produto da adiponectina com 25VD.

Tabela 17. Variação da chance de apresentar inflamação lobular de acordo com os parâmetros inflamatórios, as variáveis da VD e a influência da VD nos parâmetros inflamatórios em pacientes portadores de DHGNA.

		<i>Odds Ratio</i>	<i>IC 95%</i>	<i>p</i>
Adiponectina	§	0,98	0,88 - 1,1	0,759
	*	0,98	0,88 - 1,1	0,753
	**	0,98	0,87 - 1,1	0,73
	***	0,97	0,86 - 1,1	0,665
Visfatina	§	1,29	0,67 - 2,5	0,443
	*	1,29	0,67 - 2,52	0,444
	**	1,31	0,67 - 2,54	0,432
	***	1,25	0,61 - 2,57	0,542
Resistina	§	0,79	0,43 - 1,46	0,458
	*	0,79	0,43 - 1,47	0,463
	**	0,83	0,44 - 1,58	0,575
	***	0,73	0,35 - 1,53	0,409
VD sérica	§	1	0,95 - 1,04	0,913
	*	1	0,95 - 1,04	0,914
	#	1,01	0,96 - 1,06	0,651
	***	1,01	0,96 - 1,06	0,654
QSol	§	0,96	0,85 - 1,08	0,485

	*	0,96	0,85 - 1,01	0,486
	#	0,94	0,83 - 1,07	0,367
	***	0,96	0,84 - 1,1	0,561
VD consumo	§	1,55	0,97 - 2,48	0,067
	*	1,55	0,97 - 2,48	0,036
	#	1,66	1,01 - 2,71	0,045
	***	1,68	1,02 - 2,74	0,04
VD x adiponectina		1,01	1 - 1,02	0,154
VD x visfatina		0,86	0,74 - 1	0,055
VD x resistina		1,13	1 - 1,23	0,051

VD: vitamina D; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; §: análise univariada; * ajustado para idade; ** ajustado para idade e parâmetros inflamatórios; # ajustado para idade e as variáveis da VD; *** ajustado para idade, parâmetros inflamatórios e as variáveis da VD. QSol: questionário de exposição solar.

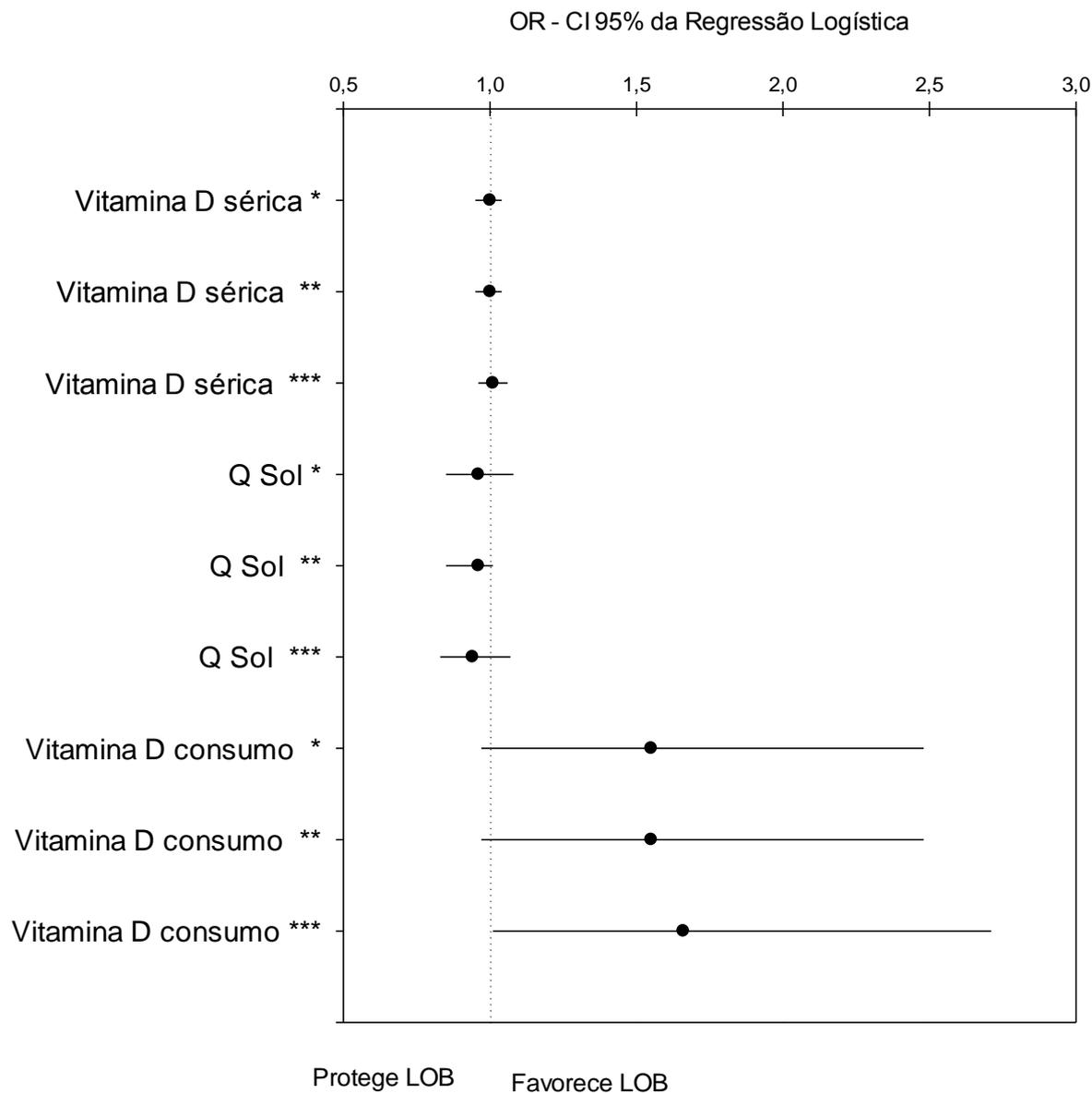


Figura 4. Variação da chance de apresentar inflamação lobular de acordo com as variáveis da VD e parâmetros inflamatórios. VD: vitamina D; Q Sol: questionário de exposição solar; LOB: presença de inflamação lobular; ng/mL: nanogramas por mililitro; μ /d: microgramas por dia; * ajustado para idade; ** ajustado para variáveis da vitamina D (VD sérica, QSol e VD consumo); *** ajustado para variáveis da vitamina D (VD sérica, QSol, VD consumo) e parâmetros inflamatórios (adiponectina, visfatina e resistina).

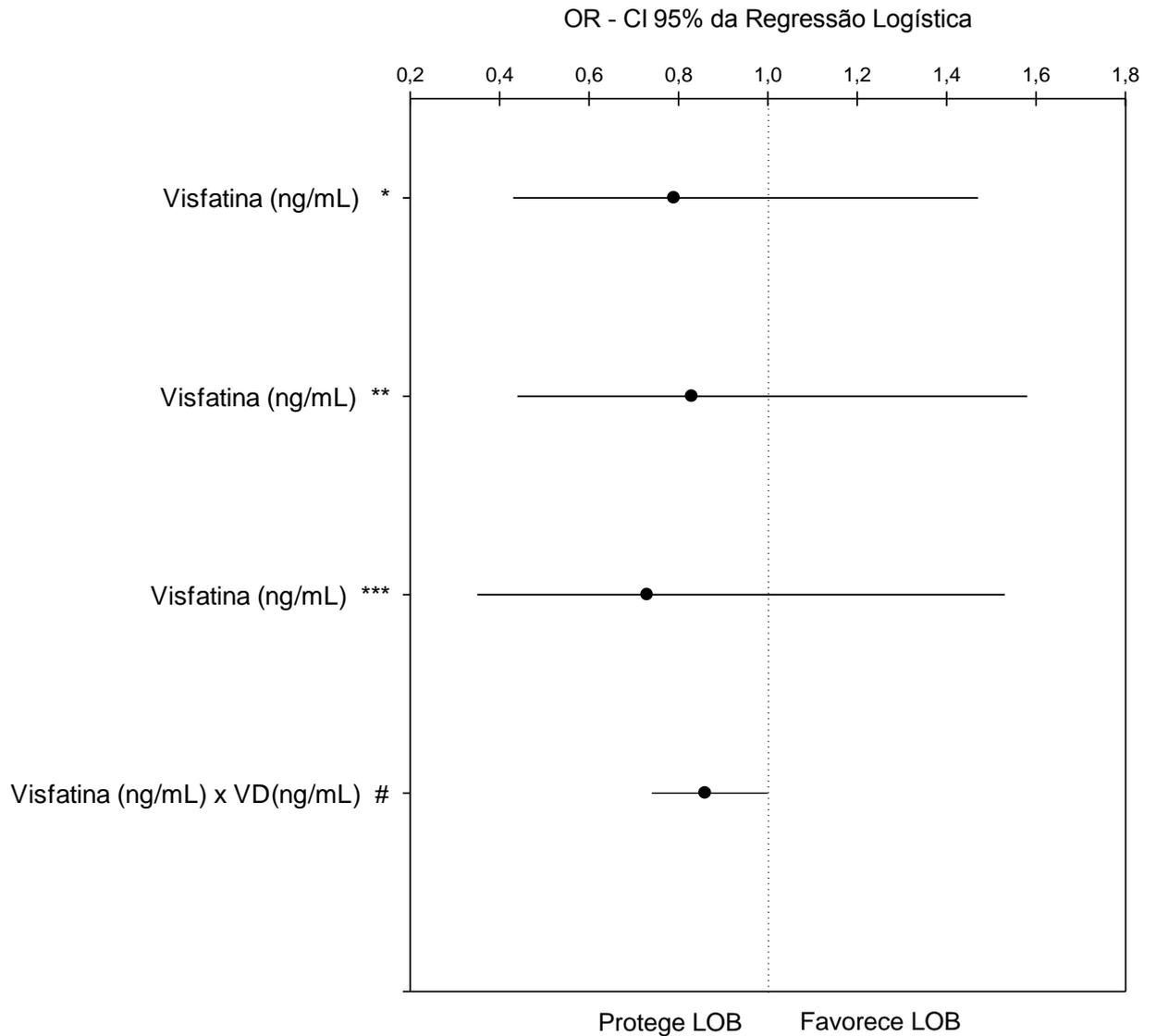


Figura 5. Variação da chance de apresentar inflamação lobular de acordo com a concentração de visfatina e a influência da VD na visfatina. ng/mL: nanogramas por mililitro; VD: vitamina D; * ajustado para idade; ** ajustado para adiponectina e resistina; *** ajustado para idade, adiponectina, resistina e variáveis da VD; # influência da VD na visfatina ajustado para idade, adiponectina, visfatina, resistina e variáveis da VD. LOB: presença de inflamação lobular.

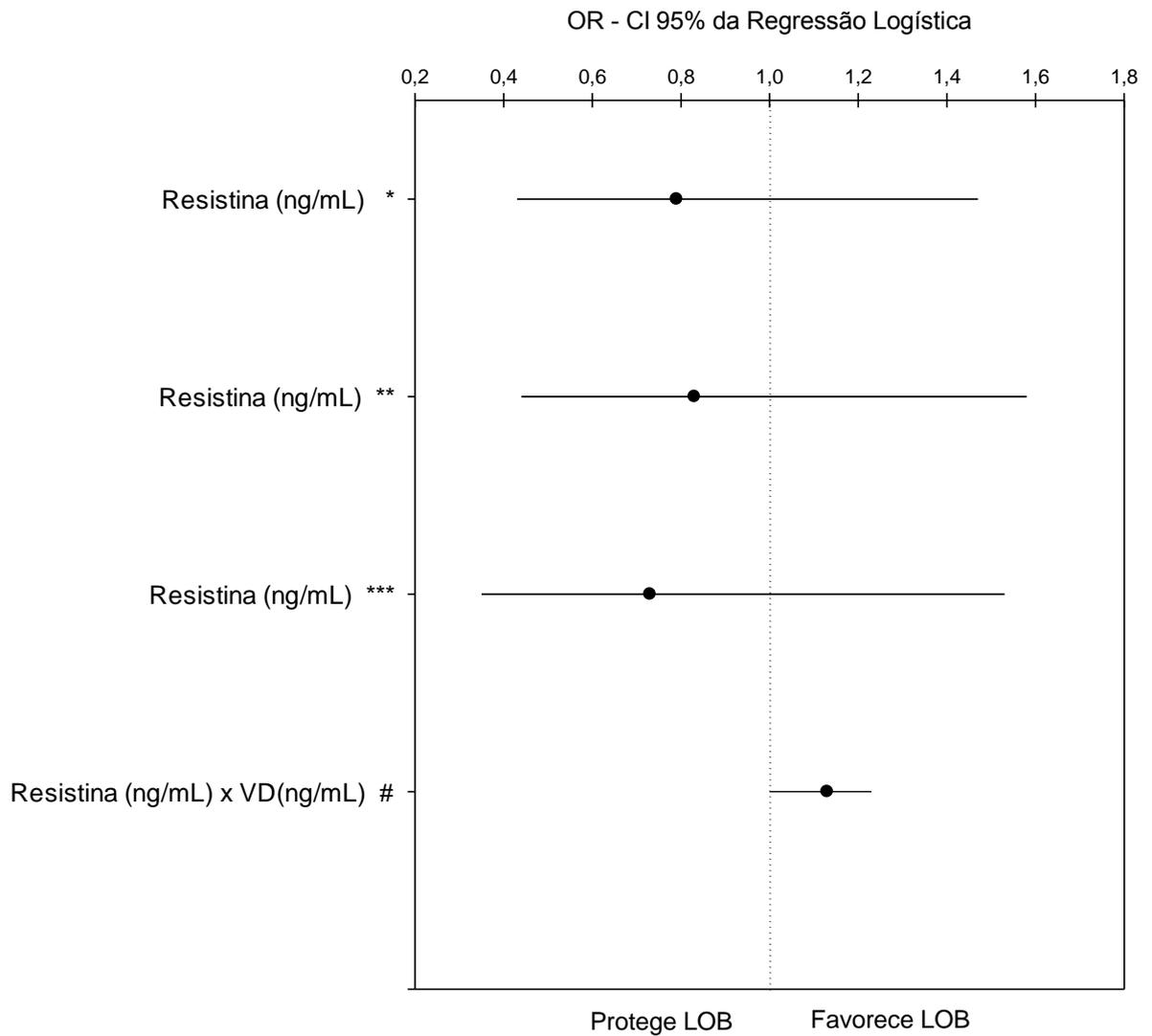


Figura 6. Variação da chance de apresentar inflamação lobular de acordo com a concentração de resistina e a influência da VD na resistina. ng/mL: nanogramas por mililitro; VD: vitamina D; * ajustado para idade; ** ajustado para adiponectina e visfatina; *** ajustado para idade, adiponectina, visfatina e variáveis da VD; # influência da VD na resistina ajustado para idade, adiponectina, visfatina e variáveis da VD. LOB: presença de inflamação lobular.

Balonização

Não foi observado alteração de chance ou influência da VD para nenhum modelo (Tabela 18).

Tabela 18. Variação da chance de apresentar balonização de acordo com os parâmetros inflamatórios, as variáveis da VD e a influência da VD nos parâmetros inflamatórios em pacientes portadores de DHGNA.

		<i>Odds Ratio</i>	<i>IC 95%</i>	<i>p</i>
Adiponetina	§	0,97	0,83 - 1,14	0,7
	*	0,97	0,82 - 1,14	0,68
	**	0,94	0,78 - 1,12	0,481
	***	0,94	0,78 - 1,13	0,498
Visfatina	§	5,37	0,2 - 143	0,316
	*	5,27	0,2 - 139	0,321
	**	5,96	0,22 - 165	0,292
	***	6,67	0,21 - 214	0,283
Resistina	§	0,95	0,39 - 2,33	0,907
	*	0,97	0,39 - 2,39	0,944
	**	1,13	0,45 - 2,85	0,793
	***	1,28	0,48 - 3,42	0,62
VD sérica	§	0,99	0,93 - 1,05	0,675
	*	0,99	0,93 - 1,04	0,675
	#	0,98	0,92 - 1,05	0,521
	***	0,98	0,91 - 1,05	0,568
QSol	§	0,88	0,73 - 1,06	0,18
	*	0,88	0,74 - 1,06	0,188
	#	0,88	0,73 - 1,06	0,169
	***	0,88	0,73 - 1,07	0,194
VD consumo	§	0,95	0,61 - 1,46	0,802
	*	0,96	0,62 - 1,48	0,855
	#	0,99	0,62 - 1,56	0,953

	***	0,91	0,54 - 1,53	0,733
VD x adiponectina		0,99	0,97 - 1,01	0,25
VD x visfatina		0,75	0,48 - 1,16	0,2
VD x resistina		0,97	0,83 - 1,13	0,684

VD: vitamina D; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; §: análise univariada; * ajustado para idade; ** ajustado para idade e parâmetros inflamatórios; # ajustado para idade e as variáveis da VD; *** ajustado para idade, parâmetros inflamatórios e as variáveis da VD. QSol: questionário de exposição solar.

Fibrose perisinusoidal

Foi observado que com o aumento de visfatina cresce a chance de apresentar fibrose perisinusoidal de acordo com os ajustes dos modelos. O aumento de 1ng/mL de visfatina aumentou 90% a chance de apresentar F PERIS (OR: 1,91; 95% CI:1,08-3,38; p=0,026) na análise univariada e aumentou em 2 vezes (OR:2,05; 95% CI:1,12-3,73; p=0,019) quando ajustado para idade. Foi observado ainda o aumento em 2,3 vezes (OR:2,3; 95% CI:1,22-4,36; p=0,01) quando ajustado para a idade e os marcadores inflamatórios (adiponectina e resistina) e em 2,66 vezes (OR:2,66; 95% CI:1,3-5,44; p=0,007) quando ajustado para idade, adiponectina, visfatina, resistina e as variáveis da VD (Tabela 19 e Figura 7).

Não foi observado influência da VD nos parâmetros inflamatórios para nenhum modelo (Tabela 19)

Tabela 19. Variação da chance de apresentar fibrose persinusoidal de acordo com os parâmetros inflamatórios, as variáveis da VD e a influência da VD nos parâmetros inflamatórios em pacientes portadores de DHGNA.

		<i>Odds Ratio</i>	IC 95%	p
Adiponectina	§	0,95	0,86 - 1,05	0,332

	*	0,95	0,86 - 1,06	0,351
	**	0,91	0,81 - 1,02	0,109
	***	0,9	0,79 - 1,02	0,1
Visfatina	§	1,91	1,08 - 3,38	0,026
	*	2,05	1,12 - 3,73	0,019
	**	2,3	1,22 - 4,36	0,01
	***	2,66	1,3 - 5,44	0,007
Resistina	§	0,7	0,32 - 1,52	0,372
	*	0,69	0,31 - 1,49	0,341
	**	0,76	0,31 - 1,85	0,539
	***	0,53	0,17 - 1,64	0,27
VD sérica	§	0,97	0,93 - 1,02	0,245
	*	0,97	0,93 - 1,02	0,244
	#	0,97	0,92 - 1,02	0,228
	***	0,97	0,92 - 1,03	0,31
QSol	§	0,99	0,88 - 1,1	0,796
	*	0,98	0,88 - 1,1	0,789
	#	0,98	0,87 - 1,1	0,74
	***	1,04	0,9 - 1,21	0,549
VD consumo	§	0,97	0,71 - 1,33	0,855
	*	0,96	0,7 - 1,31	0,787
	#	0,9	0,64 - 1,26	0,543
	***	0,82	0,54 - 1,23	0,33
VD x adiponectina		0,99	0,98 - 1	0,131
VD x visfatina		1	0,92 - 1,09	0,991
VD x resistina		1,01	0,9 - 1,14	0,844

VD: vitamina D; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; §: análise univariada; * ajustado para idade; ** ajustado para idade e parâmetros inflamatórios; # ajustado para idade e as variáveis da VD; *** ajustado para idade, parâmetros inflamatórios e as variáveis da VD. QSol: questionário de exposição solar.

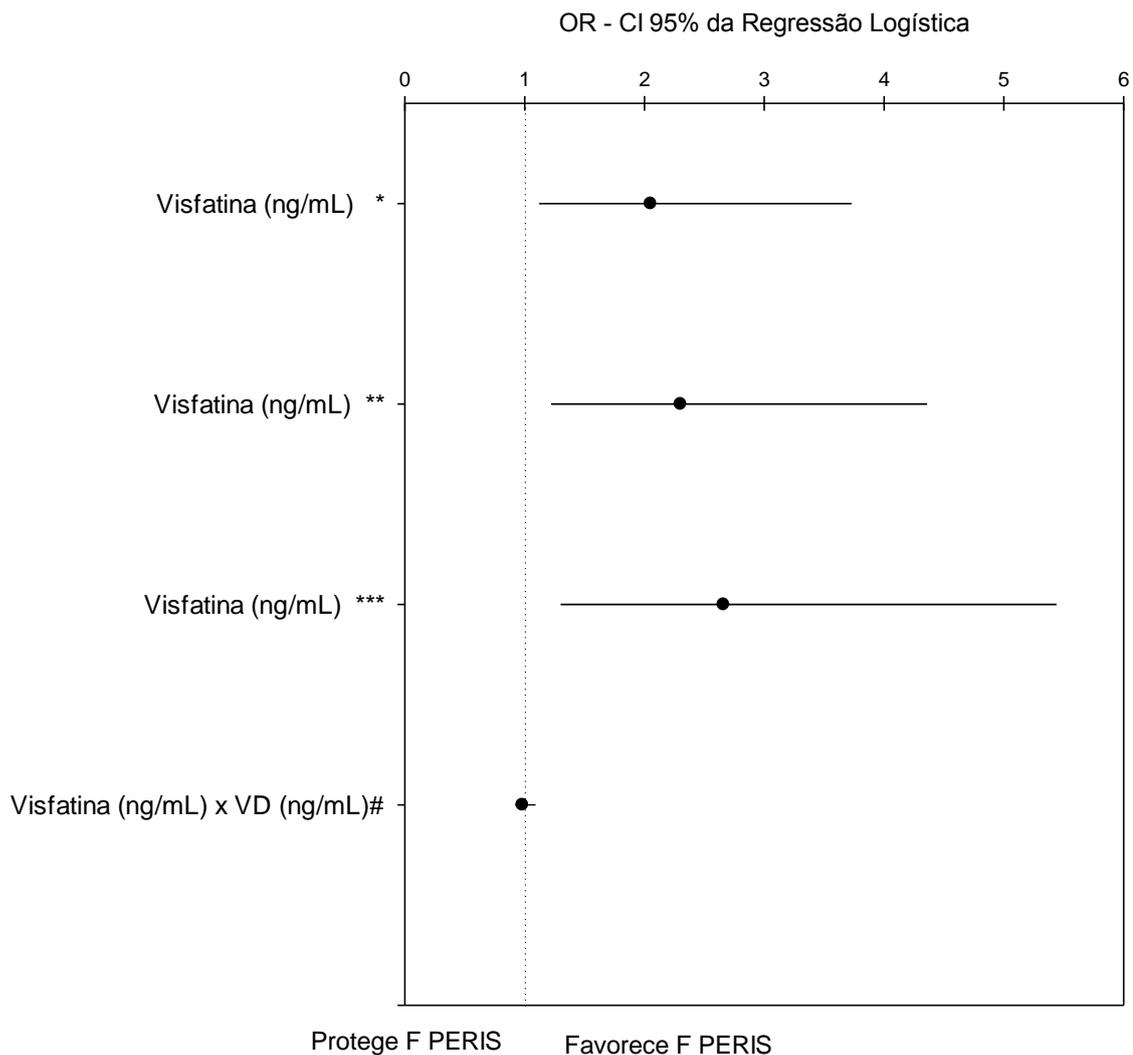


Figura 7. Variação da chance de apresentar fibrose perisinusoidal de acordo com a concentração de visfatina e a influência da VD na visfatina. ng/mL: nanogramas por mililitro; VD: vitamina D; * ajustado para idade; ** ajustado para adiponectina, e resistina; *** ajustado para idade, adiponectina, resistina e variáveis da VD; # interação VD com visfatina ajustado para idade, adiponectina, visfatina, resistina e variáveis da VD. F PERIS: presença de fibrose perisinusoidal.

Fibrose

Foi observado que o aumento de 1ng/mL de adiponectina diminui em 14% a chance de apresentar fibrose (OR:0,88; IC95%: 0,78-1; p=0,05) quando ajustado para idade, marcadores inflamatórios (visfatina e resistina) e variáveis da VD (Tabela 20 e Figura 8). Por outro lado, foi verificado que o aumento de 1ng/mL de visfatina aumenta em 2,3 vezes a chance de apresentar fibrose (OR: 2,34; 95% CI: 1,07-5,09; p=0,033) quando ajustado apenas para idade; em 2,74 vezes (OR:2,74; 95% CI:1,18-6,38; p=0,019) quando ajustado para a idade e os marcadores inflamatórios (resistina e adiponectina) e em 2,96 vezes (OR:2,96; 95% CI: 1,19-7,35; p=0,02) quando ajustado para idade, adiponectina, resistina e as variáveis da VD (Tabela 20 e Figura 9).

Não foi observado influência da VD nos parâmetros inflamatórios para nenhum modelo (Tabela 20).

Tabela 20. Variação da chance de apresentar fibrose de acordo com os parâmetros inflamatórios, as variáveis da VD e a influência da VD nos parâmetros inflamatórios em pacientes portadores de DHGNA.

		Odds Ratio	IC 95%	p
Adiponectina	§	0,93	0,85 - 1,03	0,169
	*	0,95	0,86 - 1,04	0,288
	**	0,89	0,8 - 1	0,055
	***	0,88	0,78 - 1	0,05
Visfatina	§	1,91	0,97 - 3,75	0,061
	*	2,34	1,07 - 5,09	0,033
	**	2,74	1,18 - 6,38	0,019
	***	2,96	1,19 - 7,35	0,02
Resistina	§	0,82	0,46 - 1,48	0,517
	*	0,76	0,42 - 1,4	0,38
	**	0,9	0,46 - 1,76	0,75
	***	0,9	0,43 - 1,89	0,791

VD sérica	§	0,99	0,95 - 1,03	0,52
	*	0,99	0,95 - 1,02	0,5
	#	0,98	0,94 - 1,02	0,424
	***	0,99	0,96 - 1,04	0,837
QSol	§	0,94	0,85 - 1,04	0,205
	*	0,93	0,84 - 1,03	0,183
	#	0,93	0,83 - 1,03	0,158
	***	0,94	0,7 - 1,37	0,899
VD consumo	§	1,03	0,78 - 1,36	0,821
	*	0,99	0,74 - 1,32	0,958
	#	0,98	0,72 - 1,33	0,158
	***	0,98	0,7 - 1,37	0,899
VD x adiponectina		0,99	0,98 - 1	0,107
VD x visfatina		0,99	0,92 - 1,09	0,894
VD x resistina		0,99	0,9 - 1,09	0,833

VD: vitamina D; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; §: análise univariada; * ajustado para idade; ** ajustado para idade e parâmetros inflamatórios; # ajustado para idade e as variáveis da VD; *** ajustado para idade, parâmetros inflamatórios e as variáveis da VD. QSol: questionário de exposição solar.

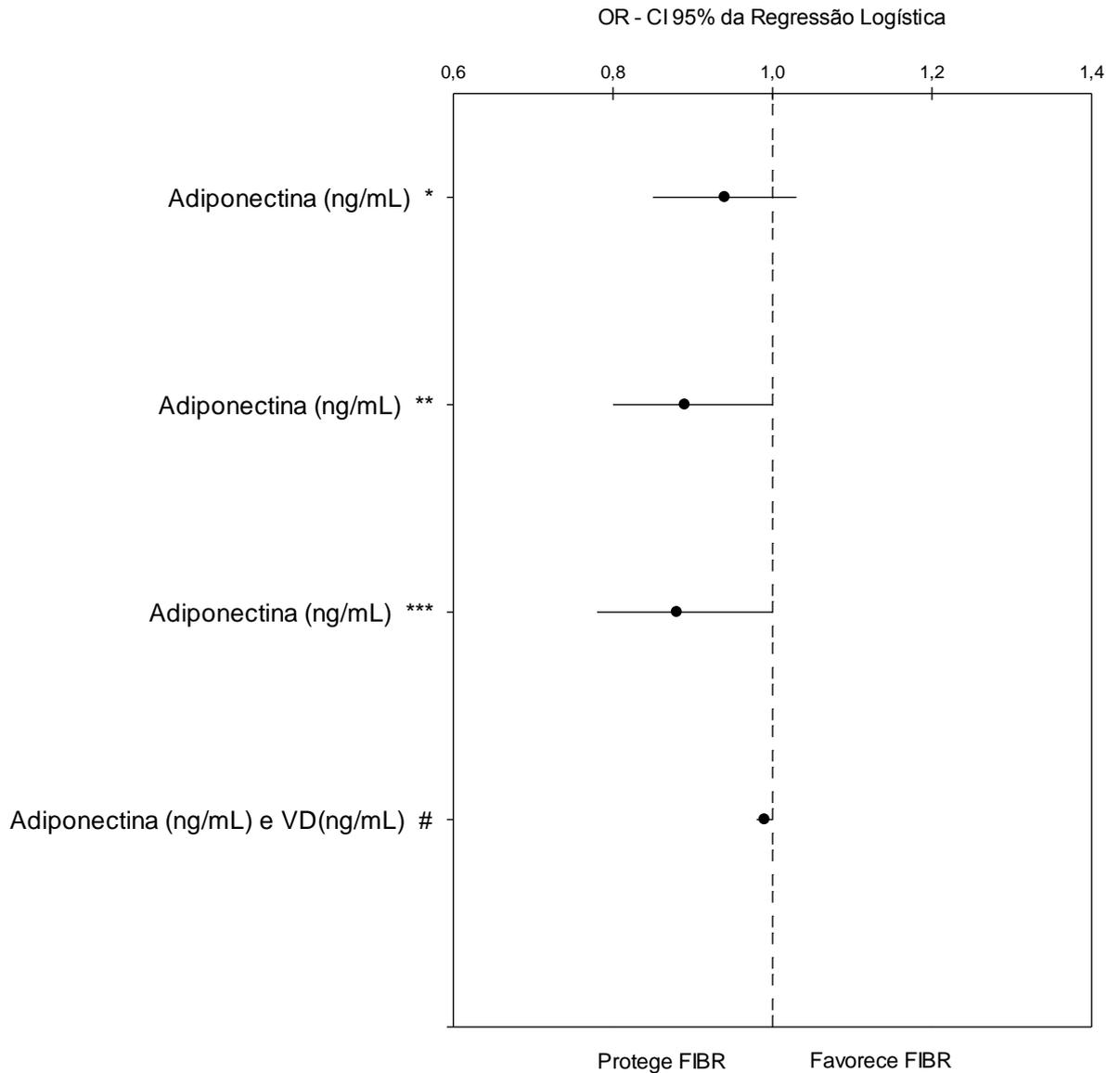


Figura 8. Variação da chance de apresentar fibrose de acordo com a concentração de adiponectina e da influência da VD na adiponectina. ng/mL: nanogramas por mililitro; VD: vitamina D; * ajustado para idade; ** ajustado para visfatina e resistina; *** ajustado para idade, visfatina, resistina e variáveis da VD; # interação VD com adiponectina ajustado para idade, adiponectina, visfatina, resistina e variáveis da VD. FIBR: fibrose.

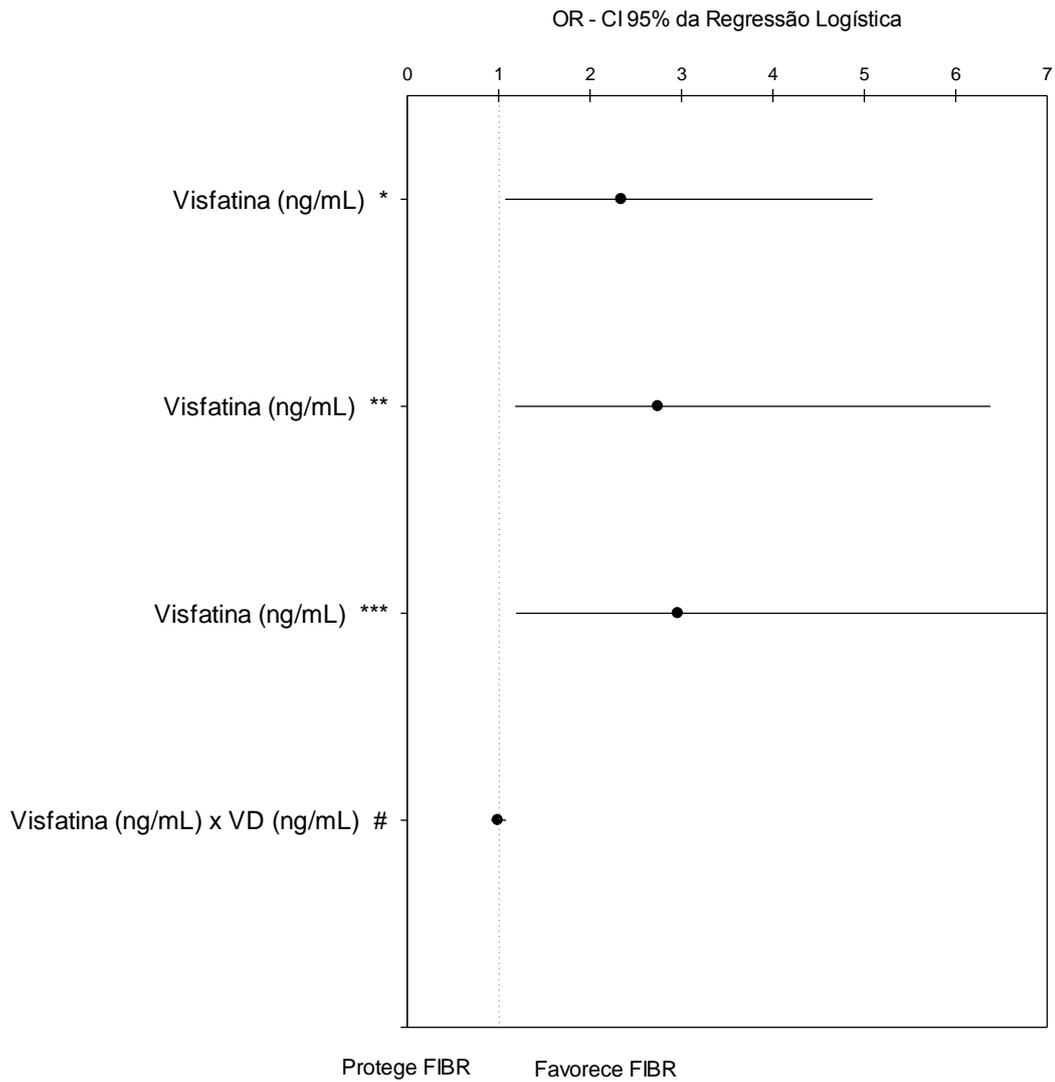


Figura 9. Variação da chance de apresentar fibrose de acordo com a concentração de visfatina e da influência da VD na visfatina. ng/mL: nanogramas por mililitro; VD: vitamina D; * ajustado para idade; ** ajustado para adiponectina e resistina; *** ajustado para idade, adiponectina, resistina e variáveis da VD; # interação VD com adiponectina ajustado para idade, adiponectina, visfatina, resistina e variáveis da VD. FIBR: fibrose.

EHNA

Não foi observado alteração da chance de apresentar esteato-hepatite para nenhuma das variáveis avaliadas (Tabela 21).

Em relação à influência da VD nos parâmetros inflamatórios, foi observado que fixando a visfatina, o aumento de 1 ng/mL de 25VD, diminui 19% a chance de apresentar EHNA (OR:0,84; 95% CI:0,73-0,979; p=0,025) quando entraram no modelo: idade, adiponectina, resistina, visfatina, 25VD, Q Sol, VD consumo e produto da visfatina com 25VD (Tabela 21 e Figura 10). Não foi observado influência da VD nos parâmetros inflamatórios nos outros modelos.

Tabela 21. Variação da chance de apresentar esteato-hepatite de acordo com os parâmetros inflamatórios e as variáveis da VD em pacientes com DHGNA.

		<i>Odds Ratio</i>	<i>IC 95%</i>	<i>p</i>
Adiponectina	§	0,94	0,85 - 1,03	0,196
	*	0,93	0,84 - 1,03	0,162
	**	0,91	0,82 - 1,02	0,109
	***	0,091	0,81 - 1,02	0,093
Visfatina	§	1,21	0,83 - 1,78	0,322
	*	1,16	0,79 - 1,71	0,448
	**	1,27	0,84 - 1,9	0,254
	***	1,28	0,85 - 1,95	0,24
Resistina	§	0,87	0,46 - 1,66	0,677
	*	0,91	0,47 - 1,73	0,764
	**	1,06	0,53 - 2,09	0,875
	***	1,14	0,57 - 2,28	0,72
VD sérica	§	1,01	0,97 - 1,05	0,631
	*	1	0,97 - 1,05	0,598
	#	1,01	0,97 - 1,05	0,65
	***	1,02	0,97 - 1,06	0,413
QSol	§	1	0,89 - 1,11	0,943

	*	1	0,89 - 1,11	0,949
	#	1	0,9 - 1,12	0,994
	***	1,01	0,9 - 1,13	0,872
VD consumo	§	0,97	0,77 - 1,22	0,794
	*	0,97	0,76 - 1,23	0,799
	#	1	0,78 - 1,28	0,994
	***	1,02	0,78 - 1,32	0,891
VD x adiponectina		1	0,99 - 1	0,86
VD x visfatina		0,84	0,73 - 0,89	0,025
VD x resistina		1,03	0,94 - 1,12	0,934

VD: vitamina D; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; §: análise univariada; * ajustado para idade; ** ajustado para idade e parâmetros inflamatórios; # ajustado para idade e as variáveis da VD; *** ajustado para idade, parâmetros inflamatórios e as variáveis da VD. QSol: questionário de exposição solar.

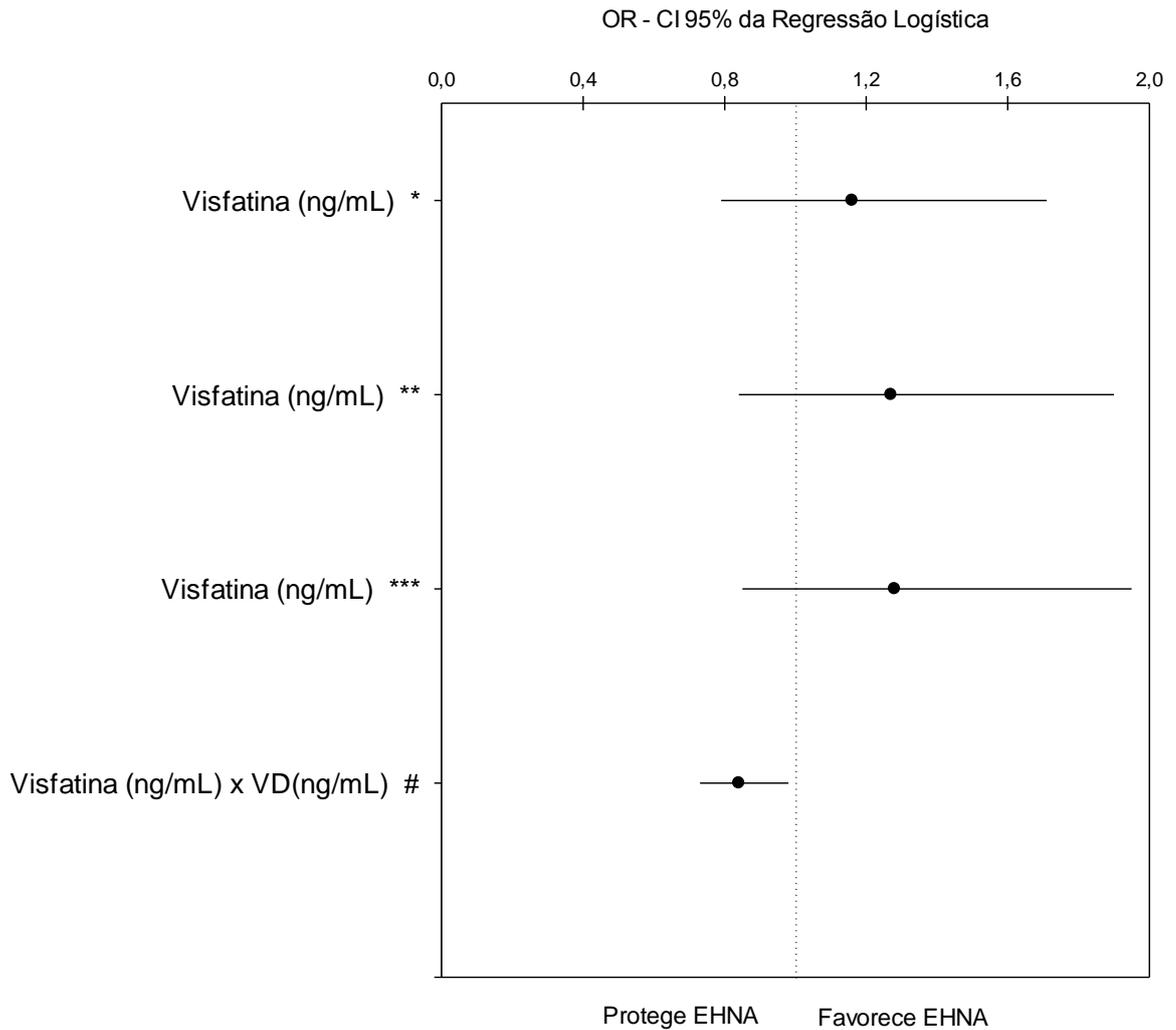


Figura 10. Variação da chance de apresentar esteato-hepatite de acordo com a concentração de visfatina e da influência da VD na visfatina. ng/mL: nanogramas por mililitro; VD: vitamina D; * ajustado para idade; ** ajustado para adiponectina e resistina; *** ajustado para idade, adiponectina, resistina e variáveis da VD; # interação VD com visfatina ajustado para idade, adiponectina, visfatina, resistina e variáveis da VD. EHNA: esteato-hepatite.

Discussão

O presente estudo avaliou pacientes com DHGNA com maior frequência do sexo feminino e obesos. Além da obesidade de acordo com o IMC, também foi observada a presença de obesidade abdominal e alta frequência de DM, HAS e DLP. Foi verificada associação da adiponectina como fator protetor e da visfatina como fator de risco para achados histológicos da DHGNA. Em relação à VD, foi observado hipovitaminose D em 60% dos pacientes. A VD influenciou a atividade da resistina, com aumento da chance de apresentar inflamação lobular; por outro lado, a VD influenciou a atividade da visfatina, com diminuição da chance de apresentar EHNA.

Foram avaliados 82 pacientes. Em relação aos achados histológicos característicos da DHGNA, foi considerado esteatose significativa o comprometimento de pelo menos 34% do tecido hepático, que foi observado em 54% dos nossos pacientes. Valores semelhantes também foram observados em indivíduos obesos acompanhados em ambulatório (Vonghia et al, 2015) e em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica (Wolfs et al, 2015). Em outro estudo, Aller et al. encontraram 44% dos pacientes com o mesmo grau de esteatose (Aller et al, 2009).

Na classificação da inflamação lobular, foi considerada a presença ou ausência do achado histológico independente do grau. Este achado foi observado em 78% dos nossos pacientes. Verificamos na literatura, que a presença de LOB pode variar de 59 a 73% dos pacientes (Aller et al, 2009, Wolfs et al, 2015; Vonghia et al, 2015).

Foi verificada a presença de balonização em 90% dos nossos pacientes, porém em estudo prévio com pacientes portadores de DHGNA atendidos em ambulatório a presença de balonização foi constatada em 100% dos pacientes (Vonghia et al, 2015) e em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica em apenas em 47% deles (Wolfs et al, 2015).

Apesar de a fibrose perisinusoidal ser característica do início do processo de fibrose na DHGNA (Skoien et al, 2013; Takahashi & Fukusato, 2014), poucos estudos diferenciam esse achado histológico em relação a presença de fibrose. A F PERIS foi observada em 28% dos

nossos pacientes e em apenas 18% no único estudo que encontramos com essa descrição (Aller et al, 2009). A fibrose é estabelecida na perpetuação da lesão hepática, porém não é possível identificar o início do processo (Skoien et al, 2013, Takahashi & Fukusato, 2014). Observamos fibrose em 46% dos nossos pacientes, porém na literatura a frequência desse achado parece estar em torno de 20% (Aller et al, 2009; Wolfs et al, 2015; Vonghia et al, 2015).

A classificação da EHNA envolve o grau de esteatose, de inflamação lobular e de balonização. Na nossa amostra observamos EHNA em 32% dos pacientes. Apesar dos valores semelhantes em relação à inflamação lobular e balonização entre nossos pacientes e os avaliados em outros estudos, na literatura a presença de EHNA foi observada entre 53% e 85% dos pacientes, valores maiores do que os observados na nossa amostra (Bril et al, 2014; Plessis et al, 2015; Vonghia et al, 2015).

Dentre os pacientes avaliados, 83% eram do sexo feminino, 94% brancos e com média da idade 51 ± 11 anos. Alguns estudos também observaram características semelhantes em pacientes com DHGNA (Jarrar et al, 2007; Silha et al, 2003; Travers et al, 2015). Considerando que a DHGNA é inicialmente assintomática e frequentemente diagnosticada ao acaso (Jiang et al, 2009; Vernon et al, 2011, Chalassani et al, 2012), a maior prevalência do sexo feminino pode ser pela maior procura por acompanhamento médico pelas mulheres (Gomes et al, 2007), não necessariamente por maior incidência no sexo feminino (Eguchi et al, 2012; Lonardo et al, 2015).

Em relação à história clínica, 37% dos pacientes apresentaram diagnóstico de DM, sendo que dentre os indivíduos não diabéticos, 2 apresentaram glicemia de jejum acima do valor de referência e 64% foram classificados como pré-diabéticos segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015). Além disso, 60% relataram ter o diagnóstico de DLP, sendo que nos indivíduos não diagnosticados com DLP, 55% apresentaram hipertrigliceridemia, 42% HDL baixo de acordo com o sexo e 42% hipercolesterolemia. A associação das DCNT, como diabetes, hipertensão e dislipidemia com

a DHGNA já foi verificada por diversos autores (Assy et al, 2000; Duvnjar et al, 2007; Leite et al, 2009; Moore, 2010; Chalassani et al, 2012); no entanto, não encontramos menção sobre a diferença entre o diagnóstico clínico e os exames laboratoriais em outros estudos transversais.

Em relação às enzimas hepáticas, observamos valores de AST e FA abaixo do ponto de corte de referência; no entanto, os valores de ALT estavam acima da referência para o sexo feminino, que basicamente compõe a amostra. Além disso, nos pacientes com F PERIS observamos valores de ALT acima da referência, dado que corrobora com os menores valores de ângulo de fase, já apontado como indicador de menor integridade da membrana plasmática (Barbosa-Silva et al, 2005; Bosy-Westphal et al, 2006; Norman et al, 2012), possivelmente indicador de extravasamento de material citoplasmático nesses pacientes. No entanto, apesar de AST também estar maior nos pacientes com ESTEAT, BALL e EHNA, não verificamos diferença na integridade da membrana celular pelo ângulo de fase. Talvez os menores valores de ângulo de fase nos pacientes com F PERIS seja devido ao início do processo de fibrose, no qual ocorre apoptose celular (Kotoulas et al, 2006; Cui et al, 2013; Koliaki & Roden, 2013; Schneider & Cuervo, 2014).

Os valores de GGT também ultrapassaram o valor de referência, sendo que a alteração apenas da GGT e da ALT em relação aos valores de referencia também foi observada em outro estudo (Sanyal et al, 2015). No entanto, diversos estudos observaram as enzimas hepáticas dentro da faixa de referencia, mesmo em estágios avançados da doença (Jarrar et al, 2007; Portillo-Sanchez et al, 2015; Kälsch et al, 2015). Dessa forma, sugere-se que a DHGNA seja investigada nos indivíduos portadores dos fatores de risco, como DM, DLP e obesidade independente de alterações nas enzimas hepáticas (Skelly et al, 2001; Chalassani et al, 2012; Nalbantoglu & Brunt, 2014).

A DHGNA está associada com a obesidade (Vernon et al, 2011, Chalassani et al, 2012). Dessa forma, alta prevalência de obesidade (96%) observada nos nossos pacientes é semelhante à verificada em outros estudos com pacientes portadores de DHGNA

(Marchesini et al, 1999; Sanyal et al, 2001; Pagano et al, 2002; Duvnjar et al, 2007; Vernon et al, 2011; Chalassani et al, 2012; La Tijera et al, 2015; Than & Newsome, 2015).

Além da obesidade pela classificação do IMC; em 80,5% nos nossos pacientes também foi observada a obesidade visceral aferida pela circunferência abdominal (Yoshizumi et al, 1999; Bosy-Westphal et al, 2010; Cornier et al, 2011) e classificada de acordo com o sexo (Cornier et al, 2011). Além disso, nos pacientes com F PERIS foram observados maiores valores de circunferência abdominal. Diversos estudos já haviam associado a gravidade da DHGNA com esse aumento da adiposidade visceral (Ishibashi et al, 2008; Petta et al, 2011; Choudary et al, 2012).

O aumento da adiposidade visceral contribui com o desenvolvimento de RI, que ocorre basicamente por dois fatores - maior concentração de insulina para obter o mesmo efeito metabólico ou insulina normal com falha na resposta metabólica (Bugianesi et al, 2005; Fabbrini et al, 2010). Nos nossos pacientes, foi observada hiperinsulinemia com glicose discretamente elevada, caracterizando quadro de resistência insulínica na classificação do HOMA-IR de acordo com o IMC (Ghiringhello et al, 2006) em 48% dos pacientes. Além disso, verificamos maiores valores de HOMA-IR nos pacientes com ESTEAT, BALL, F PERIS e FIBR.

Os pacientes também apresentaram hipertrigliceridemia; consequência do aumento da dnLP estimulada pelo excesso de AGL derivados da lipólise periférica, que por sua vez é desencadeada pela RI (Armstrong et al, 2014; Fabbrini et al, 2010; Berlanga et al, 2014). O aumento de TG na corrente sanguínea estimula a síntese de VLDL, hipertrigliceridemia hepática e ES (Kohjima et al, 2008; Fabbrini et al, 2010; Berlanga et al, 2014). No estudo, foi observado aumento do HOMA-IR nos achados histológicos característicos de cada fase da doença (ESTEAT, BALL, F PERIS e FIBR). No entanto, apenas os pacientes em estágios mais avançados, como F PERIS e FIBR, apresentaram maior frequência de RI na classificação pelo IMC, sugerindo que o aumento do HOMA-IR pode estar envolvido na progressão da DHGNA.

A dnLP também é estimulada pelo desequilíbrio energético (Sevastianova et al, 2012), com maior liberação de TG para os adipócitos (Shulman, 2000; Bugianese et al, 2005;

Berlanga et al, 2014), levando ao aumento do tecido adiposo inicialmente em hiperplasia e na perpetuação do estresse em hipertrofia até a capacidade máxima de armazenamento do adipócito, caracterizando a disfunção do tecido adiposo (Bugianese et al, 2005; Sun et al, 2011; Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015; Laforest et al, 2015). Ainda que os mecanismos da lipotoxicidade não estejam totalmente explicados, sabe-se que o adipócito em capacidade máxima de armazenamento induz ao acúmulo de gordura ectópico, por exemplo, no músculo e fígado (Park et al, 2007; Sun et al, 2011; Than & Newsome, 2015). Além disso, deve ocorrer a seguinte sequência de eventos: hipóxia, aumento da permeabilidade celular, disfunção mitocondrial, ERO, recrutamento de células inflamatórias, ativação do NFκ-B e apoptose (Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015). Essas alterações caracterizam o quadro inflamatório com modificação da captação de glicose e RI no músculo, fígado e tecido adiposo, típicas da DHGNA.

O desequilíbrio energético parece ser o mecanismo chave no desenvolvimento e progressão da obesidade e da DHGNA (Ferolla et al, 2013; Gilmore et al, 2014; Sagayama et al, 2014; Dhurandha et al, 2015). No presente estudo, foi observado o consumo de 48,7 kcal/kg P, sendo que recomendação energética simplificada para manutenção do peso é de 25-30 kcal/kg P. A combinação do alto consumo energético e da inatividade física observados nos pacientes sugere desequilíbrio com excedente energético, explicando a alta prevalência de obesidade. No entanto, foi verificado em estudo com pacientes portadores de DHGNA também com maior frequência do sexo feminino e na mesma faixa etária, consumo energético em kcal semelhante ao observado em nosso estudo (Ferolla et al, 2013), evidência da relevância do desequilíbrio energético no desenvolvimento da DHGNA.

Além do balanço energético, a qualidade da alimentação também tem influência na composição corporal (Rosqvist et al, 2014; Mertens et al, 2015; Payab et al, 2015). Foi observado elevado consumo de carboidrato na forma de açúcar, doces e com baixo consumo de tubérculos, raízes e frutas. Em relação ao consumo de proteínas, foi observado consumo elevado de proteínas para o peso corporal, especialmente de carnes, ovos e leguminosas, com baixo consumo de leite e derivados. Além disso, foi apresentado elevado

consumo de óleos. Esse perfil de hábito alimentar baseado no elevado consumo de doces e gordura saturada pode caracterizar dieta de baixa qualidade e explicar a obesidade e a obesidade abdominal observada nos nossos pacientes. A circunferência abdominal já foi associada com maior consumo de doces (Payab et al, 2015) e de gordura saturada (Rosqvist et al, 2014), porém inversamente associada com a qualidade da dieta (Mertens et al, 2015).

A associação da RI e da obesidade com alterações na expressão e secreção de adipocinas já foi verificada em diversos estudos (Silha et al, 2003; Barrar et al, 2007; Aller et al, 2009; Jiang et al, 2009; Dahl et al, 2010; Akbal et al, 2012; Armstrong et al, 2014; Bekaert et al, 2015). Especialmente na DHGNA, as adipocinas parecem ter efeitos específicos, algumas protegendo e outras favorecendo o desenvolvimento da doença (Aller et al, 2009; Akbal et al, 2012; Magalhães et al, 2014; Bekaert et al, 2015; Dong et al, 2015).

Em relação à adiponectina, foi observada nos nossos pacientes média de 32,1 ng/mL. São encontrados na literatura científica diferentes valores. Foram encontrados valores semelhantes aos nossos (Ndombi et al, 2015; Ramezani-Moghadam et al, 2015) e valores muito maiores (Jarrar et al, 2007; Jiang et al, 2009; Magalhães et al, 2014). Estes últimos na faixa de 2 a 30µg/ mL em pacientes com DHGNA (Jarrar et al, 2007; Jiang et al, 2009; Magalhães et al, 2014). Esta variação pode ser devida ao tipo de ensaio. A adiponectina circula no sangue na forma de mix de trímeros, hexâmetros e complexos de alto peso molecular (He et al, 2015). Assim, se o ensaio determinar apenas a adiponectina de alto peso molecular, e não reconhecer as formas hexamérica ou trimérica o valor vai ser menor. Além disso, pacientes com DHGNA apresentaram menor concentração de adiponectina quando comparados a controles sem a doença (Jiang et al, 2009).

A adiponectina parece ter papel protetor na progressão da DHGNA (Jarrar et al, 2007; Dong et al, 2015; Ghoshal & Bhattacharyya, 2015). Este papel protetor foi observado no nosso estudo, quando foi verificada menor chance de apresentar fibrose com o aumento da concentração de adiponectina. O mecanismo envolvido nesta atividade da adiponectina no processo de fibrose parece estar ligado ao aumento da liberação de óxido nítrico (NO). Os

receptores de adiponectina AdipoR1 e AdipoR2 estão expressos nas células estreladas (Ding et al, 2005; Dong et al, 2015), e quando ativados induzem a síntese de óxido nítrico (NO) via AMPK (Dong et al, 2015; Ghoshal & Bhattacharyya, 2015). O NO inibi a proliferação e migração das células estreladas (Failli et al, 2000; Ding et al, 2005; Devele et al, 2008), ativa a apoptose e diminui a expressão de colágeno tipo I (Devele et al, 2008); dessa forma com papel protetor no desenvolvimento de fibrose (Failli et al, 2000; Ding et al, 2005; Devele et al, 2008).

Em relação à visfatina, foi observada nos nossos pacientes concentração de 0 (0-0,355)ng/mL. Não se sabe os valores de referencia para a visfatina sérica. Existe até controvérsias sobre qual é o valor na DHGNA. Alguns estudos em que foram comparados os dados de visfatina em pacientes com DHGNA com indivíduos saudáveis apresentam valores maiores (Aller et al, 2009; Akbal et al, 2012; Bekaert et al, 2015) e outros menores valores (Dahl et al, 2010; Genc et al, 2013; Bekaert et al, 2015). Existem observações contraditórias sobre os mecanismos de ação da visfatina. Estas diferenças de observações podem ser devidas a ação da visfatina intracelular ou extracelular (Revollo et al, 2007a; Dahal et al, 2012; Garten et al, 2015). A visfatina intracelular é catalizadora da síntese de NAD crucial na regulação do metabolismo energético e sobrevivência celular, e, portanto tem papel protetor (Dahal et al, 2012; Mori et al, 2014; Yang et al, 2014; Garten et al, 2015). Porém, em relação à atividade extracelular os achados parecem mostrar a ativação da cascata inflamatória e, portanto seria fator prejudicial (Romacho et al, 2009; Dahal et al, 2010; Dahal et al, 2012; Garten et al, 2015).

No nosso estudo, verificamos maior chance de apresentar F PERIS e FIBR associado ao aumento da concentração de visfatina e este achado aponta para uma ação prejudicial. O possível mecanismo desta ação seria por atividade pró-inflamatória, com a ativação do NFκ-B e conseqüentemente, aumento da síntese de TNF-α. Esses fatores são indutores de EO e disfunção mitocondrial (Romacho et al, 2009; Moschen et al, 2010; Garten et al, 2015). Assim, a inflamação e o EO podem estar influenciando, nos nossos pacientes, o processo de fibrose (Kukla et al, 2010).

Em relação à resistina, observamos na amostra concentração de 1,16 ng/mL. Esses valores estão dentro da faixa observada na literatura, que varia de 0,55 a 9,2ng/ mL (Aller et al, 2008; Tsochatzis et al, 2008; Stojavljević et al, 2014; Shen et al, 2014; Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015; Bekaert et al, 2015). O valor da resistina é maior nos pacientes com DHGNA quando comparado aos controles (Aller et al, 2008; Tsochatzis et al, 2008; Stojavljević et al, 2014; Shen et al, 2014; Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015; Bekaert et al, 2015). Além disso, a resistina já foi associada com a presença de esteatose hepática (Zhou et al, 2013). Apesar de termos encontrado esteatose hepática em todos os nossos pacientes a resistina não esteve associada ao maior grau de esteatose hepática e também não esteve associada a nenhum outro desfecho.

Assim, a adiponectina e a visfatina estão participando do processo de fibrose na DHGNA. As ações são antagônicas, entretanto elas não se anulam na predição de fibrose.

O envolvimento dessas adipocinas no aparecimento das alterações histológicas da DHGNA coloca a atividade e o processo inflamatório em destaque. Desta maneira, é importante lembrar-se: a) da existência de hipovitaminose D como problema de saúde pública (Correia et al, 2014); b) da associação inversa da concentração de 25VD com a gravidade da doença em pacientes com DHGNA (Targher et al, 2007; Barchetta et al, 2011; Kwok et al, 2013); e c) da capacidade imunomoduladora da VD (Cohen-Lahav et al, 2006; Sadeghi et al 2006; White, 2008; Baeke et al, 2010; Borges et al, 2011; Trochoutsou et al, 2015).

Nos nossos pacientes com DHGNA a hipovitaminose D foi encontrada em 60% dos pacientes, com concentração média de 25VD sérica de 28,5 ng/ mL. Outros estudos realizados com brasileiros verificaram frequência semelhante de hipovitaminose D na população em geral (Premaor et al, 2008, Peters et al, 2009; Cabral et al, 2013; Oliveira et al, 2013; Correia et al, 2014). Desta maneira, apesar dos nossos pacientes serem predominantemente obesos, causa de deficiência/insuficiência de vitamina D (Vimaleswaran et al, 2013), o encontro de frequências de hipovitaminose D semelhantes de outras

populações em geral afasta a possibilidade da DHGNA ser fator de risco de hipovitaminose D.

Diferente dos achados de Targher et al (2007) e Barchetta et al (2011) não conseguimos verificar a associação da VD com a gravidade da doença. O principal motivo pode ser a maneira como foi feita a classificação da gravidade da DHGNA nestes estudos. O primeiro utilizou a proposta de Brunt et al (1999) para classificação da biópsia hepática. E o segundo, utilizou escore de classificação semi-quantitativa da esteatose a partir de exame de US. No entanto, o nosso estudo o escore de gravidade da doença foi baseado na classificação de Kleiner et al (2005). Ainda que os escores de classificação histológica propostos por Brunt e Kleiner sejam semelhantes, a graduação da gravidade da doença utilizada por Targher et al e no nosso estudo foram diferentes. Targher et al considerou a seguinte graduação: presença de esteatose isolada; EHNA com fibrose grau 0, EHNA com fibrose grau 1; EHNA com fibrose grau 2; EHNA com fibrose grau 3 e EHNA com fibrose grau 4. No nosso estudo, utilizamos a graduação da inflamação lobular, balonização e grau de esteatose para soma do escore. Essa diferença pode ter influenciado a associação da concentração da VD com os achados histológicos.

Por outro lado, foi verificado nos nossos pacientes que a VD influencia a visfatina e a resistina na alteração na chance de apresentar diferentes achados histológicos da DHGNA. Essa influência pode ser explicada pela ação da VD na diferenciação de monócitos em macrófagos e células dendríticas (Gordon et al, 2003; Baeke et al, 2010; Borges et al, 2011). Esses três tipos celulares apresentaram expressão de VDR constitutivamente (Baeke et al, 2010; Borges et al, 2011) e além disso, macrófagos e células dendríticas expressam a 25 hidroxilase e a 1- α hidroxilase (Fritsche et al, 2003; Sigmundsdottir et al, 2007; Borges et al, 2011). Dessa forma, a ativação da VD por essas células do sistema pode ser independente da via clássica.

Além disso, a VD regula a diferenciação de linfócitos em Th1 ou Th2 (Zhu et al, 2006; Borges et al, 2011), diminui de forma dose-dependente a expressão de TLR-2 e TLR-4

(Sadeghi et al 2006; Borges et al, 2011) e inibe a ativação do NFκ-B (Cohen-Lahav et al, 2006; Borges et al, 2011), fatos que possibilitam a modulação da resposta imune e a expressão de diversas citocinas pela VD (Borges et al, 2011), dentre elas a visfatina e a resistina.

Apesar da associação da visfatina ter aumentado a chance de apresentar FIBR E F PERIS, a influência da VD na visfatina diminuiu o risco do paciente de apresentar EHNA. A EHNA é o acúmulo de TG nos hepatócitos com infiltrado inflamatório lobular e balonização, portanto, a inflamação e RI são fatores chave na progressão e desenvolvimento do quadro (Day & James, 1998; Than & Newsome, 2015). A ação pró-inflamatória da visfatina é desencadeada pela ativação TLR-4 (Nogueira et al, 2014). Diversos estudos já associaram o TLR-4 com o desenvolvimento de EHNA (Rivera et al 2007; Ye et al, 2012; Roh & Seki, 2013; Kiziltas et al, 2014). A inativação do TLR-4 em camundongos protegeu-os do desenvolvimento de esteatose hepática, enquanto que os animais que desenvolveram EHNA apresentaram maior expressão desse receptor nos macrófagos hepáticos (Ye et al, 2012). Por outro lado, o aumento da concentração sérica de 25VD pela administração de colecalciferol diminuiu a expressão do TLR-4 em monócitos (Sadeghi et al 2006; Borges et al, 2011). Esses achados sugerem que com a diminuição da expressão do TLR-4 pela VD levaria a visfatina a ter menor atividade na cascata inflamatória. Portanto, a influência protetora da VD na visfatina seria por impedir sua atividade.

De modo diferente, a influência da VD na resistina aumentou o risco de apresentar inflamação lobular. Uma possibilidade de explicar esse achado pode ser pela ação da VD na diferenciação de linfócitos Th1 e Th2. A VD favorece a resposta Th2 (Zhu et al, 2006; Borges et al, 2011), que por sua vez aumenta a ativação de macrófagos (Bowen et al, 2008; Borges et al, 2011). Macrófagos ativados secretam resistina de forma diretamente proporcional (Patel et al, 2003; Codoñer-Franch & Alonso-Iglesias, 2015). O aumento na concentração de resistina já foi associado com a inflamação hepática (Pagano et al, 2006) e com a gravidade da fibrose (Tsochatzis et al, 2008). Essas evidências sugerem que a influência da VD na secreção da resistina pode ter sido responsável pela inflamação hepática observada nos nossos pacientes.

Os achados do nosso estudo mostram a relação da VD com as adipocinas na DHGNA. A VD influencia a atividade dessas citocinas, e conseqüentemente o papel de cada uma delas nas alterações histológicas características da doença.

Conclusão

As adipocinas estão associadas às diferentes alterações histológicas que caracterizam a DHGNA. O aumento da concentração sérica de adiponectina está associado à redução de fibrose na biópsia hepática. O aumento da concentração sérica de visfatina está associado ao aumento da fibrose perisinusoidal e fibrose na biópsia hepática.

A vitamina D influencia a visfatina de modo a proteger o aparecimento de EHNA. Com relação à resistina, a vitamina D influenciou maior aparecimento de inflamação lobular. Desta forma, a vitamina D influencia de modo diferente as adipocinas nos achados histológicos da DHGNA.

Referências

Akbal E, Koçak E, Tas A, et al. Visfatin levels in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Lab Anal.* 2012; 26:115-119.

Aller R, de Luis DA, Fernandez L, et al. Influence of insulin resistance and adipokines in the grade of steatosis of nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2008;53: 1088–92.

Aller R, de Luis DA, Izaola O, et al. Influence of visfatin on histopathological changes of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci.* 2009; 54:1772-1777. DOI:10.1007/s10620-008-0539-9.

Angulo P, Machado MV, Diehl AM, et al. Fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: mechanisms and clinical implications. *Semin Liver Dis* 2015; 35:132-145 doi 10.1055/s-0035-1550065.

Armstrong MJ, Hazlehurst JM, Hull D, et al. Abdominal subcutaneous adipose tissue insulin resistance and lipolysis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Diabetes Obes Metab.* 2014; 16:651-660.

Assy N, Kaita K, Mymin D, et al. Fatty infiltration of liver in hyperlipidemic patients. *Dig Dis Sci* 2000; 45:1929–1934.

Asterholm IW, Rutkowski JM, Fujikawa T, et al. Elevated resistin levels induce central leptin resistance and increased atherosclerotic progression in mice. *Diabetologia* 2014;57:1209–18.

Azuma K, Katsukawa F, Oguchi S, et al. Correlation between serum resistin level and adiposity in obese individuals. *Obes Res* 2003;11:997–1001.

Baeke F, Takiishi T, Korf H, et al. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol.* 2010 Aug; 10 (4): 482-96. doi:10.1016/j.coph.210.04.001. Epub 2010 Apr 27.

Barbosa-Silva MC, Barros AJ. Bioelectrical impedance analysis in clinical practice: a new perspective on its use beyond body composition equations. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005;8:311e7.

Barchetta I, Angelico F, Del Ben M, et al. Strong association between non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and low 25(OH) vitamin D levels in an adult population with normal serum liver enzymes. *BMC Medicine* 2011, 9:85.

Barchetta I, Carotti S, Labbardia G, et al. Liver vitamin D receptor, CYP2R1, and CYP27A1 expression: relationship with liver histology and vitamin D3 levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis or hepatitis C virus. *Hepatology*. 2012: Vol.56, n6.

Barrar MH, Barranova A, Collantes R, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007 27, 412–421.

Bataller R, Brenner D. Liver fibrosis. *J. Clin. Invest.* 2005; 115:209–218. doi: 10.1172/JCI200524282.

Bekaert M, Verhelst X, Geerts A, et al. Association of recently described adipokines with liver histology in biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Obesity Reviews*. 2015. doi: 10.1111/obr.12333.

Berlanga A, Guiu-Jurado, Porrás, JÁ, et al. Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Experiment Gastroenterol* 2014;7 221–239. doi.org/10.2147/CEG.S62831

Blüher M, Mantzoros CS. From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century. *Metabolism*. 2015 64, 131–145

Borges AC, Martini LA, Rogero MM. Current perspectives on vitamin D, immune system, and chronic diseases. *Nutrition*. 2011; 27; 399–404 . doi:10.1016/j.nut.2010.07.022

Bosy-Westphal A, Boone CA, Blöcker T, et al. Measurement site for waist circumference affects its accuracy as an index of visceral and abdominal subcutaneous fat in a Caucasian population. *J Nutr*. 2010; 140: 954–961 doi:10.3945/jn.109.118737

Bosy-Westphal A, Danielzik S, Dorhofer RP, et al. Phase angle from bioelectrical impedance analysis: population reference values by age, sex, and body mass index. *J Parenter Enteral Nutr* 2006;30:309e16.

Bowen H, Kelly A, Lee T, et al. Control of cytokine gene transcription in Th1 and Th2 cells. *Clin Exp Allergy*. 2008;38:1422–31

Bril F, Maximos M, Portillo-Sanchez, et al. Relationship of vitamin D with resistance and disease severity in nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 2014, doi: 10.1016/j.jhep.2014.08.040

Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie Am, et al. Nonalcoholic steatohepatites: a proposal for grading and staging the histological lesions. *A J Gastroenterol*. 1999, Sep; 94(9):2467-74.

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

Brunt EM. Alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2002; 6: 399-420, vii [PMID: 12122863]

Brunt EM. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 195-203 [PMID: 20195271 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.21]

Bugianese E, McCollough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology*. 2005;42:987-1000. doi: 10.1002/hep.20920

Cabral MA, Borges AM, Maia JMC, et al. Prevalence of vitamin D deficiency during the summer and its relationship with sun exposure and skin phototype in elderly men living in the tropics. *Clin Interv Aging*. 2013;8:1347-51. doi: 10.2147/CIA.S47058.

Camargo, KF. Estudo da inflamação e da autoimunidade na doença hepática gordurosa não alcoólica. Botucatu. Tese de mestrado em Fisiopatologia em Clínica Médica – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/ FMB, 2014.

Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the american gastroenterological association, american association for the study of liver diseases, and american college of gastroenterology. *Gastroenterology*. 2012; 142: 1592- 1609. DOI:10.1053/j.gastro.2012.04.001.

Chang YH, Chang D-M, Lin K-C, et al. Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 27, 515–527 (2011).

Chen H, Xia T, Zhou L, et al. Gene organization, alternate splicing and expression pattern of porcine visfatin gene. *Domest Anim Endocrinol* 2007 32:235–45.

Choudhary NS, Duseja A, Kalra N, et al. Correlation of adipose tissue with liver histology in Asian Indian patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Annals of Hepatology*. 2012; 11 (4) :478-486.

Codoner-Franch P, Alonso-Iglesias E. Resistin: insulin resistance to malignancy. *Clinica Chimica Acta*. 2015; 438; 46–54. doi.org/10.1016/j.cca.2014.07.043

Cohen-Lahav M, Shany S, Tobvin D, et al. Vitamin D decreases NF- κ B activity by increasing I κ B levels. *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21: 889–897 doi:10.1093/ndt/gfi254.

Colnot S, Perret C. Liver zonation. *Molecular Pathology of Liver Diseases, Molecular Pathology Library, Chapter 2*. S.P.S. Monga (ed.), 5, 7 DOI 10.1007/978-1-4419-7107-4_2.

Cornier MA, Després JP, Davis N, et al. Assessing adiposity: a scientific statement from the American heart association. *Circulation*. 2011; 124: 1996-2019 . doi: 10.1161/CIR.0b013e318233bc6a.

Correia A, Azevedo MS, Gondim F. Ethnic aspects of vitamin D deficiency. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2014;58(5):540-4.

Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer J, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis. *Age and Ageing*. 2010; 39:412-423. Doi10.1093/ageing/afq034

Cuervo AM, Dice JF. Age-related decline in chaperone-mediated autophagy. *J. Biol. Chem.* 2000; 275, 31505–31513

Cui M, Yu H, Wang J, et al. Chronic caloric restriction and exercise improve metabolic conditions of dietary-induced obese mice in autophagy correlated manner without involving AMPK. *J. Diabetes Res.* 2013, 852754.

Cui W, Ma J, Wang X, et al. Free fatty acid induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis of β -cells by Ca^{2+} / Calpain-2 pathways. *PLOS One*. 2013; 8(3): e59921. doi:10.1371/journal.pone.0059921.

Dahl TB, Haukeland JW, Yndestad A, et al. Intracellular nicotinamide phosphoribosyltransferase protects against hepatocyte apoptosis and is down-regulated in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab*, June 2010, 95(6):3039–3047. doi: 10.1210/jc.2009-2148.

Dahl TB, Holm S, Aukrust P, et al. Visfatin/ NAMPT: a multifaceted molecular with diverse roles in physiology and pathophysiology. *Annu. Rev. Nutr.* 2012. 32:229–43. DOI: 10.1146/annurev-nutr-071811-150746

Day CP, James, OF. Steatohepatitis: a tale of two “hits”? *Gastroenterology* 1998; 114 (4) 842e845.

Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Juliar BE, et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5452–5.

Deleve LD, Wang X, Guo Y. Sinusoidal endothelial cells prevent rat stellate cell activation and promote reversion to quiescence. *Hepatology*. 2008; 48:920–930

Dhurandhar EJ, Kaiser KA, Dawson JA, et al. Predicting adult weight change in the real world: a systematic review and meta-analysis accounting for compensatory changes in

energy intake or expenditure. *International Journal of Obesity*. 2015; 39, 1181–1187; doi:10.1038/ijo.2014.184.

Dilworth FJ, Chambon P. Nuclear receptors coordinate the activities of chromatin remodeling complexes and coactivators to facilitate initiation of transcription. *Oncogene*. 2001, 20, 3047-54.

Ding X, Saxena NK, Lin S, et al. The roles of leptin and adiponectin: a novel paradigm in adipocytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology. *Am J Pathol* 2005, 166:1655–1669.

Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2014-2015/Sociedade Brasileira de Diabetes ; [organização Jose Egidio Paulo de Oliveira, Sergio Vencio]. – Sao Paulo: AC Farmaceutica, 2015

Dong Z, Su L, Esmaili S, et al. Adiponectin attenuates liver fibrosis by inducing nitric oxide production of hepatic stellate cells. *J Mol Med*. 2015; Dec;93(12):1327-39 doi:10.1007/s00109-015-1313-z.

Du Plessis J, van Pelt J, Korf H, et al. Association of adipose tissue inflammation with histologic severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2015;149:635–648. DOI:10.1053/j.gastro.2015.05.044.

Duvnjak M, Lerotc I, Barsic N, et al. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13(34): 4539-4550. ISSN 1007-9327.

Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, et al. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *J Gastroenterol* . 2012; 47:586–595. DOI 10.1007/s00535-012-0533-z.

Eissing L, Scherer T, Tödter K, et al. De novo lipogenesis in human fat and liver linked to ChREBP and metabolic health. *Nat Commun*. 2013 ; 4: 1528. doi:10.1038/ncomms2537.

Eliades M, Spyrou E, Agrawal N, et al. Meta-analysis: vitamin D and non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 246–254. doi:10.1111/apt.12377. *Endocrinol Metab* 2014;29:479-488. DOI:10.3803/EnM.2014.29.4.479.

Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic and clinical implications. *Hepatology*. 2010 February; 51(2): 679–689. doi:10.1002/hep.23280 .

Failli P, De FR, Caligiuri A, et al. Nitrovasodilators inhibit platelet-derived growth factor-induced proliferation and migration of activated human hepatic stellate cells. *Gastroenterology*, 2000; 119:479–492

Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2015 Jul;36(7):461-70. doi: 10.1016/j.tips.2015.04.014. Epub 2015 May 25.

Ferolla SM, Ferrari TCA, Lima MLP, et al. Dietary patterns in Brazilian patients with non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *Clinics*. 2013;68(1):11-17.

Fisher FM, McTernan PG, Valsamakis G, et al. Differences in adiponectin protein expression: effect of fat depots and type 2 diabetic status. *Hormone and Metabolic Research*. 2002; 34 650–654. doi:10.1055/s-2002-38246.

Fritsche J, Mondal K, Ehensperger A, et al. Regulation of 25-hydroxyvitamin D₃ by human dendritic cells. *Blood*. 2003; 102: 3314-3316.

Fuentes E, Fuentes F, Vilahur G, et al. Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:136584.

Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 307, 426 (2005). doi:10.1126/science.1097243 .

Garten A, Schuster S, Penke M, et al. Physiological and pathophysiological roles of NAMPT and NAD metabolism. *Nat. Rev. Endocrinol.* 11, 535–546 (2015); published online 28 July 2015; doi:10.1038/nrendo.2015.117.

Genc H, Dogru T, Kara M, et al. association of plasma visfatin with hepatic and systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Annals of Hepatology.* 2013; 12 (4):380-387.

Ghiringhello MT, Vieira JG, Tachibana TT, et al. Distribution of HOMA-IR in Brazilian subjects with different body mass indexes. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006;50:573-4

Ghoshal K, Bhattacharyya M. Adiponectin: probe of the molecular paradigm associating diabetes and obesity. *World J Diabetes* 2015 February 15; 6(1): 151-166. DOI: 10.4239/wjd.v6.i1.151.

Gilmore LA, Ravussin E, Bray GA, et al. An objective estimate of energy intake during weight gain using the intake-balance method. *Am J Clin Nutr* 2014;100:806–12.

Gomes R, do Nascimento EF, de Araújo FC. Por que os homens buscam menos os serviços de saúde do que as mulheres? As explicações de homens com baixa escolaridade e homens com ensino superior. *Cad. Saúde Pública*, 2007, 23(3):565-574.

Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol* 2003;3:23–35.

Haussler MR, Jurutka PW, Mizwicki M, et al. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1alpha,25(OH)(2)vitamin D(3), genomic and non-genomic mechanisms. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011, 25, 543-59.

Haussler MR, Haussler CA, Jurutka PW, et al. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J. Endocrinol.* 1997, 154 Suppl, S57-S73.

He Y, Lu L, Wei X, et al. The multimerization and secretion of adiponectin are regulated by TNF-alpha. *Endocrine.* 2015 sep 25. doi: 10.1007/s12020-015-0741-4.

Holick MF. Vitamin D and bone health. *J. Nutr.* 126: 1159S-1164S, 1996.

Hsieh YY, Shen CH, Huang WS, et al. Resistin-induced stromal cell-derived factor-1 expression through Toll-like receptor 4 and activation of p38 MAPK/NFkappaB signaling pathway in gastric cancer cells. *J Biomed Sci.* 2014;21:59.

Institute of Medicine. *Dietary Reference Intake: reference values for vitamins.* 2005.

Ishibashi E, Eguchi Y, Eguchi T, et al. Waist circumference correlates with hepatic fat accumulation in male Japanese patients with non-alcoholic Fatty liver disease, but not in females. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008; 23: 908–913.

Jablonski KL, Jovanovich A, Holmen J, et al. Low 25-hydroxyvitamin D level is independently associated with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013 Aug; 23 (8): 792-8. doi: 10.1016/j.numecd.2012.12.006. Epub 2013 Feb 13.

Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 27, 412–421. doi:10.1111/j.1365-2036.2007.03586.x.

Jeong DW, Lee HW, Cho YH, et al. Comparison of serum ferritin and vitamin D in association with the severity of nonalcoholic fatty liver disease in Korean adults.

Jiang LL, Li L, Hong XF, et al. Patients with nonalcoholic fatty liver disease display increased serum resistin levels decrease adiponectin levels. *Eur J Gastroenterol Hepatol .* 2009. 21:662–666. DOI: 10.1097/MEG.0b013e328317f4b5.

Jiang, S. Heller B, Tagliabracci VS, et al. Starch binding domain-containing protein 1/genethonin 1 is a novel participant in glycogen metabolism. *J. Biol. Chem.* 2010; 285, 34960–34971.

Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005 May;26(3):439-51. doi: 10.1210/er.2005-0005.

Kälsch J, Bechmann LP, Heider D, et al. Normal liver enzymes are correlated with severity of metabolic syndrome in a large population based cohort. *Sci Rep.* 2015 Aug 13;5 : 13058. DOI: 10.1038/srep13058.

Kiziltas S, Ata P, Colak Y, et al. TLR4 gene polymorphism in patients with nonalcoholic fatty liver disease in comparison to healthy controls. *Metab Syndr Relat Disord*. 2014; Apr;12(3):165-70. doi: 10.1089/met.2013.0120.

Kleiner DE, Brunt EM, van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41:1313-1321.

Koga H, Kaushik S, Cuervo A M. Altered lipid content inhibits autophagic vesicular fusion. *FASEB J*. 2010; 24, 3052–3065.

Kohjima M, Higuchi N, Kato M, et al. SREBP-1c, regulated by the insulin and AMPK signaling pathways, plays a role in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med*. 2008;21(4):507–511.

Koliaki C, Roden M. Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Mol. Cell.Endocrinol*. 2013; 379, 35–42.

Kotoulas OB, Kalamidas SA, Kondomerkos DJ. Glycogen autophagy in glucose homeostasis. *Pathol. Res. Pract*. 2006; 202, 631–638.

Kukla M, Ciupinska-Kajor M, Kajor M, et al. Liver visfatin expression in morbidly obese patients with nonalcoholic fatty liver disease undergoing bariatric surgery. *POL J PATHOL* 2010; 61 (3): 147–153.

Kwok RM, Torres DM, Harrison SA. Vitamin D and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): is it more than just an association? *Hepatology*. 2013;58:1166-1174. doi: 10.1002/hep.26390. Epub 2013 Jul 29.

La Tijera FH, Servín-Caamano AI. Pathophysiological mechanisms involved in non-alcoholic steatohepatitis and novel potential therapeutic targets. *World J Hepatol* 2015 June 8; 7(10): 1297-1301. DOI: 10.4254/wjh.v7.i10.1297.

Laforest S, Labrecque J, Michaud A, et al. Adipocyte size as a determinant of metabolic disease and adipose tissue dysfunction. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2015; Dec;52(6):301-13. doi: 10.3109/10408363.2015.1041582. Epub 2015 Aug 17.

Lehr S, Hartwig S, Sell H. Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteomics Clin. Appl*. 2012; 1–2, 91–101.

Lehrke M, Reilly MP, Millington SC, et al. An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans. *PLoS Med* 2004;1:e45.

Leite NC, Salles GF, Araujo ALE, et al. Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus. *Liver Int*. 2009 Jan;29(1):113-9. doi: 10.1111/j.1478-3231.2008.01718.x. [Epub 2008 Apr 1].

Liu HY, Han J, Cao SY, et al. Hepatic autophagy is suppressed in the presence of insulin resistance and hyperinsulinemia: inhibition of FoxO1-dependent expression of key autophagy genes by insulin. *J. Biol. Chem* 2009; 284, 31484–31492.

Lonardo A, Bellentani S, Argo CK, et al. Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: focus on high-risk groups. *Diag Liver Dis*. 2015 Dec; 47(12):997-1006. doi: 10.1016/j.dld.2015.08.004. [Epub 2015 Aug 14].

Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 434-438

Magalhaes GCB, Feitoza FM, Moreira SB. Hypoadiponectinaemia in nonalcoholic fatty liver disease obese women is associated with infrequent intake of dietary sucrose and fatty foods. *J Hum Nutr Diet*. 27 (Suppl. 2), 301–312 doi:10.1111/jhn.12110.

Makni E, Moalla W, Benezzedine-Boussaidi L, et al. Correlation of resistin with inflammatory and cardiometabolic markers in obese adolescents with and without metabolic syndrome. *Obes Facts* 2013;6:393–404.

Malaguarnera M, Di Rosa M, Nicoletti F, et al. Molecular mechanisms involved in NAFLD progression. *J Mol Med* (2009) 87:679–695. DOI 10.1007/s00109-009-0464-1.7

Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107: 450-455

Martin PR, Shea RJ, Mulks MH. Identification of a plasmid-encoded gene from *Haemophilus ducreyi* which confers NAD independence. *J. Bacteriol.* 2001; 183:1168–74

McKenna NJ, O'Malley BW. Combinatorial control of gene expression by nuclear receptors and coregulators. *Cell*, 2002; 108,465-74.

Mei S, Ni M, Manley S, et al. Differential roles of unsaturated and saturated fatty acids on autophagy and apoptosis in hepatocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2011; 339, 487–498.

Mendler MH, Kanel G, Govindara S, et al. Proposal for a histological scoring and grading system for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Inter* 2005; 25: 294–304 . DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01052.x

Mertens E, Deforche B, Mullie P, et al. Longitudinal study on the association between three dietary indices, anthropometric parameters and blood lipids. *Nutr Metab (Lond)*. 2015 Nov 19;12:47. DOI 10.1186/s12986-015-0042-1.

Meshkani R, Adeli K. Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Clin Biochem* 2009;42:1331–46.

Moore JB. Non-alcoholic fatty liver disease: the hepatic consequence of obesity and metabolic syndrome. *Proc Nutr Soc.* 2010 May; 69 (2): 211-20. doi: 10.1017/S0029665110000030. [Epub 2010 Feb 17].

Mori V, Amici A, Mazzola F, et al. Metabolic profiling of alternative NAD biosynthetic routes in mouse tissues. *PLoS ONE* 2014; 9(11): e113939. doi:10.1371/journal.pone.0113939

Moschen AR, Gerner RR, Tilg, H. Pre-B cell colony enhancing factor/NAMPT/visfatin in inflammation and obesity-related disorders. *Curr. Pharm. Des.* 2010; 16, 1913–1920.

Nalbantoglu I, Brunt EM. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014 July 21; 20(27): 9026-9037. DOI: 10.3748/wjg.v20.i27.9026.

Ndombi EM, Budambula V, Webale MK, et al. Serum adiponectin in HIV-1 and hepatitis C virus mono-and co-infected Kenyan injection drug users. *Endocr Connect.* 2015 Dec;4(4):223-32. doi: 10.1530/EC-15-0071. Epub 2015 Aug 25.

Neumeier M, Weigert J, Schäffler A, et al. Regulation of adiponectin receptor 1 in human hepatocytes by agonists of nuclear receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 334: 924-929 [PMID: 16023994]

Nogueira AVB, Nokhbehshaim M, Eick S, et al. Regulation of visfatin by microbial and biomechanical signals in PDL cells. *Clin Oral Invest* (2014) 18:171–178. DOI 10.1007/s00784-013-0935-1.

Norman K, Stobäus N, Pirlich M, et al. Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis – clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clin Nutr.* 2012 Dec;31(6):854-61. doi: 10.1016/j.clnu.2012.05.008. Epub 2012 Jun 12.

Oliveira RMS, Novaes JF, Azevedo LM, et al. Association of vitamin D insufficiency with adiposity and metabolic disorders in Brazilian adolescents. *Public Health Nutrition:* 2013. 17(4), 787–794 doi:10.1017/S1368980013001225

Pagano C, Soardo G, Pilon C, et al. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 1081–1086, 2006. doi: 10.1210/jc.2005-1056.

Pagano G, Pacini G, Musso G, et al. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association. *Hepatology* 2002; 35: 367-372

Palácios C, Gil K, Pérez CM, et al. Determinants of vitamin D status among overweight and obese Puerto Rican adults. *Ann Nutr Metab* 2012;60:35–43. DOI: 10.1159/000335282

Park JM, Jeong G, Kim SJ et al. Predictors reflecting the pathological severity of nonalcoholic fatty liver disease: comprehensive study of clinical and immunohistochemical findings in younger Asian patients. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2007; 22 (4) 491e497

Park SH, Kim BI, Kim SH, et al. Body fat distribution and insulin resistance: beyond obesity in nonalcoholic fatty liver disease among overweight men. *J Am Coll Nutr.* 2007 Aug;26(4):321-6.

Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR γ activators. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; Jan 10;300(2):472-6. [doi:10.1016/S0006-291X\(02\)02841-3](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)02841-3)

Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR- γ activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003 Jan 10;300(2):472-6.

Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, et al. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science* 2004; 304: 1154-1158 .

Payab M, Kelishadi R, Qorbani M, et al. Association of junk Food consumption with high blood pressure and obesity in Iranian children and adolescents: the Caspian-IV Study. *J Pediatr (Rio J).* 2015;91(2):196-205. DOI: 10.1016/j.jped.2014.07.006.

Peters BS, dos Santos LC, Fisberg M, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in Brazilian adolescents. *Ann Nutr Metab.* 2009;54(1):15-21. doi: 10.1159/000199454. Epub 2009 Feb 5.

Petta S, Amato MC, di Marco V, et al. Visceral adiposity index is associated with significant fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 238–247. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04929.x.

Philip ST. Redesenho da Pirâmide Alimentar Brasileira para uma alimentação saudável. 2013

Piya MK, McTernan PG, Kumar S. Adipokine inflammation and insulin resistance: the role of glucose, lipids and endotoxin. *J Endocrinol.* 2013; 216, T1–T15. DOI: 10.1530/JOE-12-0498.

Pollock ML, Wilmore JH. Exercícios na saúde e na doença: avaliação e prescrição para prevenção e reabilitação. Medsi: Rio de Janeiro 1993. 734p.

Portilho-Sanchez P, Bril F, Maximos M, et al. High prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus and normal plasma aminotransferase levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100: 2231–2238. doi: 10.1210/jc.2015-1966.

Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest.* 2008;118(3):829–838.

Premaor MO, Paludo P, Manica D, et al. Hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in resident physicians of a general hospital in southern Brazil. *J Endocrinol Invest.* 2008 Nov;31(11):991-5.

Ramezani-Moghadam M, Wang J, Ho V, et al. Adiponectin reduces hepatic stellate cell migration by promoting tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1). *J Biol Chem.* 2015 Feb 27;290(9):5533-42. doi: 10.1074/jbc.M114.598011. Epub 2015 Jan 9.

Revollo JR, Grimm AA, Imai S. The regulation of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis by Nampt/ PBEF/ visfatin in mammals. *Curr Opin Gastroenterol.* 2007; 23:164–170.

Revollo JR, Körner A, Mills KF, et al. Nampt/ PBEF/ visfatin regulates insulin secretion in β - cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab.* 2007 November ; 6(5): 363–375.

Revollo JR, Korner A, Mills KF, et al. Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab.* 2007; 6:363–75

Rhee EJ, Kim MK, Park SE, et al. High serum vitamin D levels reduce the risk for nonalcoholic fatty liver disease in health men independent of metabolic syndrome. *Endocr J.* 2013;60(6):743-52. Epub 2013 Feb 13.

Rivera CA, Adegboyega P, et al. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2007;47:571e9.

Rivera CA, Adegboyega P, van-Rooijen N, et al. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.* 2007; 47 (4) 571e579.

Romacho T, Azcutia V, Vázquez-Bella M, et al. Extracellular PBEF/NAMPT/visfatin activates pro-inflammatory signalling in human vascular smooth muscle cells through nicotinamide phosphoribosyltransferase activity. *Diabetologia.* 2009; 52:2455–2463. DOI:10.1007/s00125-009-1509-2

Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, et al. Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *Eur. J. Immunol.* 2002; 32:3225–34

Rosqvist F, Iggman D, Kullberg J, et al. Overfeeding polyunsaturated and saturated fat causes distinct effects on liver and visceral fat accumulation in humans. *Diabetes* 2014;63:2356–2368. DOI: 10.2337/db13-1622.

Roth YS, Seki E. Toll-like receptors in alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and carcinogenesis. *Gastroenterol Hepatol.* 2013 August ; 28(0 1): 38–42. doi:10.1111/jgh.12019.

Sadeghi K, Wessner B, Laggner U, et al. Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur. J. Immunol.* 2006. 36: 361–370. DOI 10.1002/eji.200425995.

Sagayama H, Jikumaru Y, Hirata A, et al. Measurement of body composition in response to a short period of overfeeding. *J Physiol Anthropol*. 2014 Sep 10;33:29. doi: 10.1186/1880-6805-33-29.

Samal B, Sun Y, Stearns G, et al. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol. Cell. Biol*. 1994; 14:1431–37

Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 2001; 120: 1183-1192

Sanyal D, Mukherjee P, Raychaudhuri M, et al. Profile of liver enzymes in non-alcoholic liver disease in patients with impaired glucose tolerance and newly detected untreated type 2 diabetes. *Indian J Endocrinol Metab*. 2015 Sep Oct; 19(5): 597–601. doi: 10.4103/22308210.163172 .

Schneider JL, Cuervo AM. Liver autophagy: much more than just taking out the trash. *Hepatology*. 2014; 11, 187–200. doi:10.1038/nrgastro.2013.211.

Sevastianova K, Santos A, Kotronen A, et al. Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans. *Am J Clin Nutr*. 2012 ; Oct;96(4):727-34. Epub 2012 Sep 5.

Shen C, Zhao CY, Wang W, et al. The relationship between hepatic resistin overexpression and inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Gastroenterology*. 2014 Feb 23;14:39. doi: 10.1186/1471-230X-14-39.

Shulman GI, Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease, *N. Engl. J. Med*. 2014; 371 (12) 1131e1141.

Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000 Jul;106(2):171-6.

Sigmundsdottir H, Pan J, Debes GF, et al. DCs metabolize sunlight-induced vitamin D3 to “program” T cell attraction to the epidermal chemokine CCL27. *Nat Immunol*. 2007 Mar;8(3):285-93. Epub 2007 Jan 28.

Silha JV, Krsek M, Skrha JV, et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *Eur J Endocrinol*. 2003 Oct;149(4):331-5.

Skelly MM, James PD, Ryder SD. Findings on liver biopsy to investigate abnormal liver function tests in the absence of diagnostic serology. *J Hepatol* 2001; 35: 195-199 [PMID: 11580141]

Skoien R, Richardson MM, Jonsson JR, et al. Heterogeneity of fibrosis patterns in non-alcoholic fatty liver disease supports the presence of multiple fibrogenic pathways. *Liver Int*. 2013 Apr;33(4):624-32. doi: 10.1111/liv.12100. Epub 2013 Jan 29.

Spranger J, Kroke A, Möhlig M, et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2003; 361 226–228. (doi:10.1016/S0140-6736(03)12255-6)

Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001;409:307–12.

Stienstra R, Saudale S, Duval C , et al. Kupffer cells promote hepatic steatosis via interleukin-1beta-dependent suppression of peroxisome proliferator-activated receptor alpha activity. *Hepatology*. 2010; 51 (2) 511e522.

Stojsavljevic S, Palcic MG, Jukic LV, et al. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014 December 28; 20(48): 18070-18091. DOI: 10.3748/wjg.v20.i48.18070.

Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest* 2011;121:2094–101

Svegliati-Baroni G, Ridolfi F, Di Sario A, et al. Insulin and insulin-like growth factor-1 stimulate proliferation and type I collagen accumulation by human hepatic stellate cells: differential effects on signal transduction pathways. *Hepatology*. 1999; 29:1743–1751

Svensson D, Nebel D, Nölsson BO. Vitamin D₃ modulates the innate immune response through regulation of the hCAP-18/LL-37 gene expression and cytokine production. *Inflamm. Res.* 2015 DOI 10.1007/s00011-015-0884-z.

Takahashi Y, Fukusato T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/ nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2014 November 14; 20(42): 15539-15548. DOI: 10.3748/wjg.v20.i42.15539.

Targher G, Bertolini L, Scala L, et al. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D₃ concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc*. 2007; 17, 517-524.

Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*. 239 (2015) 192-202.

Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*. 2010;52:1836-1846. DOI 10.1002/hep.24001.

Travers RL, Motta AC, Betts JA, et al. Adipose tissue metabolic inflammatory responses to a mixed meal in lean, overweight and obese men. *Eur J Nutr*. 2015. DOI:10.1007/s00394-015-1087-7.

Trochoutsou AR, Kloukina V, Samitas K, et al. Vitamin D in the immune system: genomic and non-genomic actions. *Med Chem*. 2015, 15, 953-963.

Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, et al. Serum adipokine levels in chronic liver diseases: association of resistin levels with fibrosis severity. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 1128-1136 [PMID: 18609175 DOI: 10.1080/00365520 802085387]

Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, et al. Serum adipokine levels in chronic liver diseases: association of resistin levels fibrosis severity. *Scand J Gastroenterol* 2008;43(9):1128-36. doi: 10.1080/00365520802085387.

Vázquez MJ, González CR, Varela L, et al. Central resistin regulates hypothalamic and peripheral lipidmetabolism in a nutritional-dependent fashion. *Endocrinology* 2008; 149:4534–43.

Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steathepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 274–285. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x.

Vimalleswaran KS, Berry DJ, Lu C, et al. Causal Relationship between Obesity and Vitamin D Status: Bi-Directional Mendelian Randomization Analysis of Multiple Cohorts. *PLoS Med* (2013) 10(2): e1001383. doi:10.1371/journal.pmed.1001383

Vonghia L, Magrone T, Verrijken A, et al. Peripheral and hepatic vein cytokine levels in correlation with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) – related metabolic, histological, and haemodynamic features. *PLoS ONE*. 2015; 10(11):e0143380. doi:10.1371/journal.pone.0143380.

Waitzeberg DL, Ferrini MT. Exame físico e antropometria. In: Waitzeberg DL, ed. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica*. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2001.

Wanderley-Rocha DR, Jorge AR, Braulio VB, et al. Visceral adiposity measurements, metabolic and inflammatory profile in obese patients with and without type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional analysis. *Curr Diabetes Rev*. 2015; Oct15 [Epub ahead of print]

Wei Y, Rector SR, Thyfault JP, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and mitochondrial dysfunction. *World J Gastroenterol* 2008 January 14; 14(2): 193-199. DOI: 10.3748/wjg.14.193.

Weston SR, Leyden W, Murphy R, et al. Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease. *Hepatology* 2005; 41:372–79

White, J.H. Vitamin D signaling, infectious diseases, and regulation of innate immunity. *Infect. Immun.* 2008; 76, 3837-43.

Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, et al. Adiponectin – a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes, Obesity & Metabolism.* 2006; 8:264–280. (doi:10.1111/j.1463- 326.2005.00510.x)

Wobser H, Dorn C, Weiss TS, et al. Lipid accumulation in hepatocytes induces fibrogenic activation of hepatic stellate cells. *Cell Research.* 2009; 19:996-1005. doi: 10.1038/cr.2009.73; published online 23 June 2009

Wolfs MGM, Gruben N, Rensen SS, et al. Determining the association between adipokine expression in multiple tissues and phenotypic features of non-alcoholic fatty liver disease in obesity. *Nutrition & Diabetes* (2015) 5, e146; doi:10.1038/nutd.2014.43.

Xu A, Vanhoutte PM. Adiponectin and adipocyte acid binding protein in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 302: H1231–H1240, 2012.

Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003 Jun 12;423(6941):762-9.

Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002; 8: 1288-1295

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001; 7: 941-946 [PMID: 11479627 DOI: 10.1038/90984]

Yang SJ, Choi JM, Kim L, et al. Nicotinamide improves glucose metabolism and affects the hepatic NAD-sirtuin pathway in a rodent model of obesity and type 2 diabetes. *J Nutr Biochem*. 2014 Jan;25(1):66-72. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.09.004. Epub 2013 Oct 10.

Ye D, Li FYL, Lam KSL, et al. Toll-like receptor-4 mediates obesity-induced non-alcoholic steatohepatitis through activation of X-box binding protein-1 in mice. *Gut* 2012; 61: 1058 - 1067. doi:10.1136/gutjnl-2011-300269.

Yoshizumi T, Nakamura T, Yamane M et al. Abdominal fat: standardized technique for measurement at CT. *Radiology* 1999; 211: 283–6.

Zhou L, Yu X, Meng Q, et al. Resistin reduces mitochondria and induces hepatic steatosis in mice by the protein kinase C/protein kinase G/ p65/ PPAR gamma coactivator 1 alpha pathway. *Hepatology*. 2013;57:1384-1393.

Zhu J, Yamane H, Cote-Sierra J, et al. GATA-3 promotes Th2 responses through three different mechanisms: induction of Th2 cytokine production, selective growth of Th2 cells and inhibition of Th1 cell-specific factors. *Cell Res* 2006;16:3–10.

Zhu W, Cheng KKY, Vanhoutte PM, et al. Vascular effects of adiponectin: molecular mechanisms and potential therapeutic intervention. *Clin Sci (Lond)*. 2008 Mar;114(5):361-74. doi: 10.1042/CS20070347.

Anexos

Anexo 1 - Aprovação Comitê de ética em pesquisa

 **Universidade Estadual Paulista**
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distribuição Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: buardem@fmb.unesp.br



 Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1987

Botucatu, 02 de abril de 2012

Of. 120/2012

Ilustríssimo Senhor
Prof. Dr. Carlos Eduardo Andrade Chagas
Departamento de Educação do
Instituto de Biociências de Botucatu

Prezado Prof. Carlos Eduardo,

De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4140-2012) "Estudo da relação entre vitaminas e doenças crônicas: Estado nutricional relativo à vitamina D, parâmetros hepáticos, metabólicos e genótipo para o receptor nuclear para vitamina D em indivíduos com síndrome metabólica portadores de doença hepática gordurosa não alcoólica", a ser conduzido por Vossa Senhoria, com a colaboração de Carlos Antonio Caramori, Elvira Maria Guerra Shinohara, Karelin Alvisi Cavallari, Lais Augusti e Renan Gonçalves Bertholini Vericando, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião do CEP de 02/04/2012.

Situação do Projeto: **APROVADO**. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,


Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone: (14) 3880-1008 / 3880-1608
e-mail secretaria: capefup@fmb.unesp.br
kleber@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: coorden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 15 de Julho de 2014

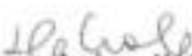
Of. 90/2014-CEP

Ilustríssimo Senhor
Prof. Titular Sérgio Alberto Rupp de Paiva
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina de Botucatu

Em relação ao Projeto de Pesquisa (Protocolo 4140-2012) Estudo da relação entre vitaminas e doenças crônicas: Estado nutricional relativo a vitamina D, parâmetros hepáticos, metabólicos e genótipo para o receptor nuclear para vitamina D em indivíduos com síndrome metabólica portadores de doença hepática gordurosa não alcoólica, informo foram **AUTORIZADAS** as alterações na equipe do projeto, conforme segue:

Autor: Karelin Alvisi Cavallari
Orientador: Prof. Titular Sérgio Alberto Rupp de Paiva
Colaboradores: Marcos Ferreira Minicucci e Carlos Antonio Caramori

Ao final do projeto é necessário enviar o Relatório Final de Atividades.


Prof.ª Dr.ª Silvana-Andrea Molina Lima
Coordenadora da CEUA

Anexo 2 - Recrutamento pacientes do ambulatório/ Unidades Básicas de Saúde

Projeto para avaliação e seguimento de pacientes com **Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) – Fígado Gorduroso**



Serão avaliados os pacientes com os seguintes critérios:

1. sobrepeso ou obesidade (IMC > ou igual a 25 kg/m²)
2. idade > ou igual a 18 anos, ambos sexos
3. preferencialmente não etilista (ingestão social)
4. indicação clínica de avaliação de existência de hepatopatia
5. suspeita de hepatopatia gordurosa não alcoólica:
 - a. dor ou incômodo (peso) no hipocôndrio D/epigástrico e/ou
 - b. hepatomegalia ou fígado tenso ou irregular ou doloroso e/ou
 - c. alterações inespecíficas de enzimas/função hepáticas e/ou
 - d. exame de imagem com alterações sugestivas de hepatopatia

Os pacientes podem ser encaminhados para agendamento de avaliação* na UPECLIN com a seguinte orientação:

Marcar consulta na UPECLIN - Protocolo DHGNA

*OBS: Não há necessidade de agendar consulta no sistema MV, solicitar exames complementares ou proceder a qualquer outra orientação pois tudo isso será feito no momento da avaliação.

Informações: UPECLIN Unidade de Pesquisa Clínica da FMB Unesp Campus de Botucatu/SP
upeclin@fmb.unesp.br ou pelo telefone: 14 38116574

Justificativa:

O presente estudo se justifica pela a alta prevalência de deficiência de VD e de DHGNA associada à SM no Brasil. Além disso, não existe nenhum estudo disponível na literatura que tenha investigado a associação entre o estado nutricional relativo à VD e parâmetros hepáticos e metabólicos em indivíduos com SM portadores de DHGNA classificados de acordo com o genótipo para o VDR.

Objetivo:

Avaliar se existe associação entre o estado nutricional relativo à VD e parâmetros hepáticos e metabólicos em indivíduos com SM portadores de DHGNA classificados de acordo com o genótipo para o VDR.

Procedimentos:

- Avaliação Clínica/ Diagnóstico de DHGNA: Os pacientes serão, inicialmente, avaliados por um médico e diagnosticados quanto a presença de DHGNA por ultrassonografia de abdômen. Posteriormente, os indivíduos portadores de DHGNA serão submetidos à biópsia hepática, de acordo com o protocolo estabelecido pela equipe de Hepatologia do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Botucatu
- Avaliação Nutricional: anamnese nutricional e composição da dieta por Questionário de Frequência Alimentar e Recordatório 24h.
- Avaliação antropométrica: Peso, Estatura, Circunferência da Cintura, Circunferência do Pescoço e Circunferência da Coxa.
- Avaliação da Composição Corporal: será determinada utilizando aparelho de bioimpedância. Como medida de controle metodológico, todos os indivíduos serão orientados a: não comer ou beber quatro horas antes do exame, não fazer exercícios 12 horas antes do exame, urinar 30 minutos antes do exame, não consumir bebida alcoólica 48 horas antes do exame, não fazer uso de medicamentos diuréticos e não estar no período menstrual. Indivíduos com uso de marcação ou picos não serão excluídos.
- Exames Bioquímicos: Diagnóstico DHGNA (IgG total, Anticorpo anti núcleo liso, Anticorpo anti microssoma hepático e renal tipo 1, Anticorpo anti mitocôndria, Sorologias para os vírus das hepatites A, B e C, Vitamina D, Alanina aminotransferase (ALT), Aspartato aminotransferase (AST), Gama glutamiltransferase (GGT), Insulina, Glicose, Colesterol total, Triacilgliceróis, HDL colesterol, TNF-alfa, Proteína C-reativa, Adiponectina.

Mestranda

Karelin Alvisi Cavallari

karelincavallari@yahoo.com.br

(14) 97298715

Anexo 3 - Aprovação secretaria da saúde**DECLARAÇÃO**

DECLARO que tenho **CIÊNCIA E AUTORIZO** o desenvolvimento do projeto de pesquisa intitulado: "Estudo da relação entre vitaminas e doenças crônicas: Estado nutricional relativo à vitamina D, parâmetros hepáticos, metabólicos e genótipo para a receptor nuclear para vitamina D em indivíduos com síndrome metabólica portadores de doenças hepáticas gordurosa não alcoólica,," a ser desenvolvido pela pesquisadora Karelín Alvisi Cavallari sob orientação do Prof^o Dr. Carlos Antônio Caramori, do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu", junto a esta entidade.

Declaro que conheço, cumprirei e farei cumprir os Requisitos da Resolução 196/96 e suas complementares e como esta Instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.

Por ser verdade, firmamos o presente.

Botucatu, 05 de Agosto de 2013.

Cláudio Lucas Miranda
Secretário da Saúde do Município de
Botucatu

Anexo 4 - Termo de consentimento livre e esclarecido.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Faculdade de Medicina da Faculdade de Medicina da UNESP Departamento de Clínica Médica Curso de Pós-Graduação em Fisiopatologia	Instituto de Biociências de Botucatu Departamento de Educação Centro de Estudos e Práticas em Nutrição – CEPNAN
--	--

Projetos: Avaliação de marcadores inflamatórios, de auto-imunidade e nutricionais em pacientes portadores de doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA)

Responsáveis: Prof. Dr. Carlos Antônio Caramori e Carlos Eduardo Andrade Chagas

Durante a leitura do documento abaixo fui informado (a) que posso interromper para fazer qualquer pergunta, com objetivo de tirar dúvidas, para o meu melhor esclarecimento.

Recentemente, tem-se estudado muito sobre a Doença Gordurosa do Fígado Não Alcoólica (DHGNA), que é o acúmulo de gordura dentro fígado. Muitas delas representam grandes causas de invalidez e morte na população brasileira adulta. O fígado gordo libera substâncias que aumentam a inflamação e estimulam a defesa do nosso organismo. Quando existe alguma alteração na defesa do nosso organismo podemos observar o desenvolvimento de doenças chamadas auto-imunes. Além disso, em indivíduos acima do peso, este excesso de gordura pode prejudicar o uso de alguns nutrientes pelo nosso organismo, dentre estes, a Vitamina D. Além de ser importante para os ossos, este nutriente também é utilizado pelo pâncreas, músculo e outros órgãos, sendo o fígado um dos mais importantes no seu metabolismo. Em pesquisas recentes, observaram o possível envolvimento da gordura na alteração da defesa do organismo levando à piora da inflamação do fígado e consequentemente à Hepatite auto-imune. Observou-se ainda, que muitos obesos tem deficiência de Vitamina D, e que esta vitamina pode ser importante no tratamento de doenças do fígado. Desta forma, convidamos você para de nossa pesquisa. Se aceitar nosso convite, você fará exames de sangue e será avaliado por um nutricionista para verificar seu peso, altura composição corporal e hábito alimentar. Em seguida, você será avaliado por um médico e fará um exame de imagem (Ultrassonografia). Caso o médico veja que você tem gordura no fígado, ele encaminhará você para agendar uma biópsia hepática (retirada de um pedaço de seu fígado). Esta biópsia será realizada por um médico especialista sob anestesia local, em ambiente apropriado (Hospital das Clínicas – FMB). A biópsia é um procedimento seguro, mas pode te causar um pequeno desconforto; apesar disso é um exame muito importante para sabermos mais detalhes a respeito da gordura que está em seu fígado. Depois da coleta da biópsia, você ficará em observação por 2 h após a biópsia com amplo suporte médico. Após este período o médico te dará alta. No seu sangue coletado, iremos estudar a inflamação e alguns hormônios relacionados com a obesidade e gordura no fígado. A partir do material coletado, conseguiremos uma amostra de seu DNA e estudaremos também se alterações em algumas partes dele (genes) são importantes para o metabolismo de vitamina D em pessoas com gordura no fígado. Todos esses exames serão realizados gratuitamente e serão muito importantes para que possamos te propor um tratamento mais adequado ao seu caso. Considerando que somos professores na Universidade e que todo o material coletado (sangue, DNA e biópsia) será armazenado, gostaria te perguntar se você autoriza a utilização deste material para que sejam realizadas outras pesquisas no futuro, sem a necessidade de realização dos mesmos exames. Você tem a liberdade de se recusar a participar ou deixar a pesquisa a qualquer momento, sem nenhum prejuízo ao seu tratamento. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

"Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do fone: (14) 3811-8143."

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____, aceito participar dos projetos acima explicados. Declaro que fui esclarecido com a leitura do texto acima e também verbalmente.

Você autoriza previamente a utilização do material coletado (sangue, DNA e biópsia) em futuras pesquisas a serem realizadas pelo grupo:

- () sim
() não

Assinatura do paciente

Agradecemos a sua colaboração e ficamos à disposição em casos de maiores esclarecimentos.

Prof. Dr. Carlos Antonio Canamori
Médico CRM 58011
Hepatologia – Depto de Clínica Médica
Telefones de contato: (14) 3811-8213
Email: comarac@gmail.com

Karina Fernandes de Camargo
Nutricionista CRN 23514
Contato: (14) 8803-3779
Email: camargo_karina@yahoo.com.br

Prof. Dr. Carlos Eduardo Andrade Chagas
Nutricionista CRN-3 14027
Instituto de Biociências – Depto de Educação
Telefone: (14) 3880-0184
Celular: (11) 9353-7483
E-mail: cchagas@ibb.unesp.br

Karelin Alviai Cavallari
Nutricionista CRN 3 - 35780-P
Contato: (14)9729-8715
Email: karelincavallari@yahoo.com.br

Renan Gonçalves Bertholini Vericondo
Nutricionista CRN 3 - 36139/P
Contato: (11) 99311-3075
Email: renanvericondo@gmail.com

Anexo 5 - Protocolo DHGNA



ANAMNESE CLÍNICA E NUTRICIONAL

1. Dados Pessoais

RG: _____
 Nome: _____
 Telefone: _____ Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____ anos
 Sexo: () M () F Escolaridade: _____ Profissão: _____

Diagnóstico Clínico: _____ Diagnóstico Nutricional: _____

2. Antecedentes Pessoais e Familiares

() DM () Tipo 1 () Tipo 2
 () Dislipidemia () Obesidade () Osteoporose () HAS
 () IRC () Hepatopatia () Coronariopatia () DCV () Câncer

3. Hábitos Gerais

Realizou acompanhamento nutricional anteriormente? S N
 Quanto tempo? _____ Objetivo: _____

Apetite: diminuído normal aumentado
 Hábito intestinal: normal obstipado diarreico Freq. _____ Consistência _____
 Flatulência: S N Freq. _____ Distensão: S N Freq. _____
 Hábito urinário: freq. _____ Coloração: Límpido Turvo
 Ingestão hídrica: _____ copos/dia Tamanho do copo _____
 Etilismo: S N Tipo: _____ Qtd: _____ Freq. _____
 Tabagismo: S N Tipo: _____ Qtd: _____ Freq. _____
 Atividade física: S N Tipo: _____ Freq. _____ Duração _____
 Medicamentos _____

4. Hábitos Alimentares

Utiliza temperos prontos: S N Enlatados: S N
 N° pessoas (a/c): _____ Óleo (litros/mês) _____ Açúcar (Kg/mês) _____
 Onde costuma fazer suas refeições: Casa _____/semana Restaurante/Serviço _____/semana
 Intolerância/Alergia: _____
 Restrição alimentar: _____
 Aversão alimentar: _____
 Suplemento alimentar _____ frequência _____ Há quanto tempo _____

5. Dados Antropométricos

Data							
Peso (kg)							
Estatura (m)							
IMC (kg/m ²)							
CA (cm)							
R. pescoço							

6. Questionário de Frequência Alimentar

GRUPO DE ALIMENTOS	Com que frequência você costuma comer?				Qual o tamanho da sua porção em relação à porção média?		
	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDADE				PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
ALIMENTOS E PREPARAÇÕES	Número de vezes (LX), etc. (N= nunca ou raramente comer no último ano)	D=por dia S=por semana M=por mês A=por ano				Porção média de referência	P= menor que a porção média M= igual à porção média G= maior que a porção média E= bem maior que a porção média
Sopas e Macarr	QUANTAS VEZES VOCE COME	D	S	M	A	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Sopa (de legumes, carnes)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 concha média (150g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Sopa Creme	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 concha média (150g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Salgados fritos (Pastel, coxinha, risolé, bolinho)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 unidade grande (80g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Salgado assado (rosinha, baurzinho, torta)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	2 unidades ou 2 porções médias (140g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Macarrão com molho sem carne	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 prato raso (200g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Macarrão com molho com carne, nhoque	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 escumadeira ou 1 pedaço pequeno (110g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Pizza, panqueca, lasanha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	2 fatias pequenas ou 2 unidades (180g)	P ○ M ○ G ○ E ○

Carnes e Peixes	QUANTAS VEZES VOCE COME	D	S	M	A	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Carne de boi (cozida ou assada)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 bife médio ou 2 pedaços (100g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Míndos, vísceras	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 bife médio ou 2 pedaços (100g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Carne de porco (lombo, bife)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 fatia média média (100g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Embutidos (Carne seca/de sal, Presunto, mortadela, lingüiça salgada/bacon)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 gove/ 2 fatias médias (30g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Frango (cozido, grelhado ou assado)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 pedaço ou 1 file pequeno (60g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Frango/Carne frita	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 pedaço ou 1 file pequeno (60g)	P ○ M ○ G ○ E ○
File de hambúrguer, nuggets, almôndegas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 unidade média (60g)	P ○ M ○ G ○ E ○
Peixe (cozido ou assado)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 file peq. ou 1 posta peq. (100g)	P ○ M ○ G ○ E ○

Peixe frito	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 filé peq. ou 1 posta peq. (100g)	P	M	O	L
	<input type="radio"/>																			

<u>Leites e Derivados</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME											<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO			
Leite/ leite integral	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	½ copo de requeijo (125ml.)	P	M	O	L
Leite/ leite semi- desnatado	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	½ copo de requeijo (125ml.)	P	M	O	L
Leite/ leite desnatado	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade poqueira (140g)	P	M	O	L
Queijo minas/ricota	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 fatia grossa (30g)	P	M	O	L
Queijo mussarela/ panela/parmesão/ provolone	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 e ½ fatia média (30g)	P	M	O	L

<u>Leguminosas e Ovos</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME											<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO			
Ovo (cozido/omelete sem recheio)	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade (50g)	P	M	O	L
Ovo frito	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade (50g)	P	M	O	L
Fenôco (todas as variedades)	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 concha média (80g)	P	M	O	L
Lentilha, ervilha seca, grão de bico	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 col. de servir (35g)	P	M	O	L
Soja	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 col. de servir (35g)	P	M	O	L
Frijoads, feijão tropeiro (com carnes gordas)	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 concha média (210g)	P	M	O	L

<u>Arroz e Tubérculos</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME											<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO			
Arroz branco (cozido com óleo e temperos)	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 escumadeiras médias (120g)	P	M	O	L
Arroz integral (cozido com óleo e temperos)	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 escumadeiras médias (120g)	P	M	O	L
Batata/ polenta/ mandioca frita	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 col. de servir cheias (100g)	P	M	O	L
Batata, mandioca, inhame, cará (cozida, assada, purê)	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 escumadeira cheia (90g)	P	M	O	L
Salada de maionese com legumes	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	3 col. heras de sopa (40g)	P	M	O	L
Farinha de mandioca, farofa, cuscuz, tapioca	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	3 col. heras de sopa (40g)	P	M	O	L
Aveia	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	3 col. heras de sopa (40g)	P	M	O	L

<u>Verduras e Legumes</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME	<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Alface	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	3 folhas médias (30g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Tomate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	3 fatias médias (40g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Cenoura (crua ou cozida)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 colher de sopa (25g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Outras legumes (abobrinha, berinjela, chuchu, pepino)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 colher de sopa cheia (30g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Verduras verde-escuras (espinafre, couve manteiga, rúcula, agrião)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 prato de sobremesa / 1 colher de servir	P M Q J ○ ○ ○ ○
Outras verduras/ brólicas (couve, brócolis, couve flor, repolho)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 colher de servir (30g) / 1 ramo médio	P M Q J ○ ○ ○ ○

<u>Molhos e Temperos</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME	<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Óleo/ Azeite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 fio (5mL)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Maionesa	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 colher de chá (4g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Molho para salada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 colher de chá (4g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Sal para tempero de salada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 pitada (0,25g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Condimentos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 pitada (0,25g)	P M Q J ○ ○ ○ ○

<u>Frutas</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME	<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Cítricas (laranja, mexerica, abacaxi, limão)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 unidade média ou 1 fatia grande (180g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Uva	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 unidade média (86g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Maçã, pêra	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 unidade média (110g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Melão, melancia	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 fatia média (150g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Mamão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 fatia média ou ½ unidade média (160g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Gravata	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	1 unidade grande (225g)	P M Q J ○ ○ ○ ○
Abacate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D	S	M	A	2 colheres de sopa cheias (90g)	P M Q J ○ ○ ○ ○

<u>Bebidas</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME	<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Suco natural com açúcar/ industrializado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	½ copo americano (80ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Suco natural sem açúcar/com adoçante	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	½ copo americano (80ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Café ou chá sem açúcar/com adoçante	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	2 xícaras de café (90ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Café ou chá com açúcar	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	2 xícaras de café (90ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Refrigerante comum	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 copo de refrigerante (240ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Refrigerante diet/light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 copo de refrigerante (240ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Carveja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	2 latas (330ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Vinho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 taça (150ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Destilados (cachaça, conhaque, whisky)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 dose (50ml.)	J M Q H ○ ○ ○ ○

<u>Pães e biscoitos</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME	<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Pão francês, pão de forma branco, torrada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 unidade ou 2 fatias (50g)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Pão integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 unidade ou 2 fatias (50g)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Biscoito sem recheio (salgado ou doce)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	4 unidades (24g)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Biscoito recheado, wafer, amanteigado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	3 unidades (41g)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Bolo recheado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 fatia média (60g)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Bolo simples/ pão doce	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 fatia média (60g)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Manteiga ou margarina passada no pão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	3 pontas de faca (15g)	J M Q H ○ ○ ○ ○

<u>Doce e sobremesa</u>	QUANTAS VEZES VOCÊ COME	<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Chocolate (bombom ou brigadeiro)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 barra pequena (25g)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Achocolatado em pó	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	2 colheres de sopa (25g)	J M Q H ○ ○ ○ ○
Sobremesas (doce, tortas, pudim)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 porção ou 1 fatia média (60g)	J M Q H ○ ○ ○ ○

Oleaginosas	QUANTAS VEZES VOCÊ COME	<u>D</u>	<u>S</u>	<u>M</u>	<u>A</u>	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO
Amendoim	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 colher de sopa	P M Q E ○ ○ ○ ○
Castanha do Brasil	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	3 unidades	P M Q E ○ ○ ○ ○
Castanha de caju	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 colher de sopa	P M Q E ○ ○ ○ ○
Outras (noz, amêndoas, macadâmia)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 colher de sopa	P M Q E ○ ○ ○ ○
Sementes (abóbora, girassol)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	D ○	S ○	M ○	A ○	1 colher de sopa	P M Q E ○ ○ ○ ○

QUESTIONÁRIO DE EXPOSIÇÃO SOLAR

1) Frequência de atividade ao ar livre por mais de 15 minutos:

- Diariamente (7 PONTOS)
 4-6 vezes por semana (5 PONTOS)
 2-3 vezes por semana (2,5 PONTOS)
 1 vez por semana (1 PONTO)
 Menos de 1 vez por semana/nunca (0)

2) Hora habitual do dia para atividades ao ar livre:

- Entre 07h e 11h da manhã (1 PONTO)
 Entre 11h da manhã e 3h da tarde (2 PONTOS)
 Entre 3h e 5h da tarde (1 PONTO)

3) Tipo de vestimenta utilizada ao ar livre:

- Calça comprida, mangas compridas, sapatos fechados, meias e chapéu (8)
 Calças curtas ou saias, mangas curtas e sapatos abertos (1 PONTO)
 Roupa de praia (2 PONTOS)

4) Frequência do uso de protetor solar:

- Nunca (3 PONTOS)
 Menos que 03 vezes por semana (2 PONTOS)
 3-6 vezes por semana (1 PONTO)
 Diariamente (8)

5) Fator de Proteção Solar (FPS):

- Não utiliza (3 PONTOS)
 FPS < 15 (2 PONTOS)
 FPS 15-30 (1 PONTO)
 FPS > 30 (8)

6) Capacidade de bronzear-se e tendência a queimar-se

- Nunca bronzela/queima (pele muito pigmentada) (8)
 Nunca queima, bronzeado preto/marrom (1 PONTO)
 Raramente queima e bronzeado marrom (2 PONTOS)
 Queima pouco e bronzela facilmente (3 PONTOS)
 Queima moderadamente, bronzela moderadamente e uniformemente (4 PONTOS)
 Queima facilmente, bronzela pouco (5 PONTOS)
 Queima facilmente, nunca bronzela (8 PONTOS)

PONTUAÇÃO:

00 – Não exposição solar

38 – Elevada exposição solar