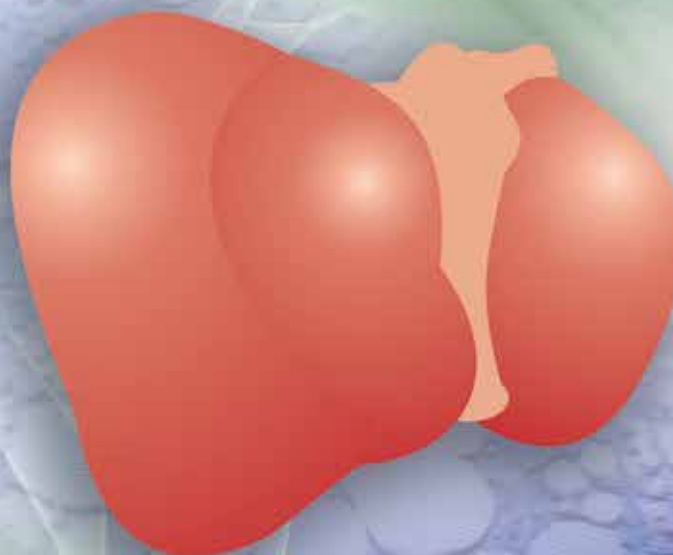


Monotemático

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica



Apoio





Henrique Sérgio Moraes Coelho

Presidente da Sociedade Brasileira de Hepatologia.

Professor Adjunto de Clínica Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A Sociedade Brasileira de Hepatologia tem como um de seus objetivos fundamentais a Educação Médica Continuada de elevada qualidade científica. Nesta edição especial, o médico terá a oportunidade de atualizar seus conhecimentos através da informação precisa e atual sobre a Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA).

Este projeto da SBH propõe, por meio da reprodução de palestras e estudos desenvolvidos por especialistas da área, um aprofundamento maior sobre o tema, com o propósito de disseminar o conhecimento aos médicos de todo o País.

A Zambon participa desta iniciativa, levando à classe médica a melhor mensagem técnico-científica, com a realização da Sociedade Brasileira de Hepatologia.

De forma dinâmica, a publicação está dividida entre o material impresso que traz uma visão de cada uma das 18 apresentações do Monotemático. A segunda parte consiste na disponibilização de um *CD-ROM* em vídeo com informações apresentadas pelos palestrantes.

Com satisfação, a Sociedade Brasileira de Hepatologia oferece este material que busca a excelência no âmbito da informação técnico-científica.

Monotemático

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica

- Prevalência e importância da DHGNA - Henrique Sérgio Moraes Coelho.....4

DHGNA EM DIFERENTES POPULAÇÕES

- DHGNA no paciente com diabetes *mellitus* - Nathalie Carvalho Leite5
- DHGNA no paciente com obesidade - Mário Reis Álvares-da-Silva6
- DHGNA no paciente pediátrico - Marise Elia de Marsillac.....6
- TAFLD ou NASH relacionado à toxicidade - Helma Pinchemel Cotrim7
- Aspectos da fisiopatogenia - Claudia Pinto Marques Souza de Oliveira8
- Controvérsias no diagnóstico histológico da esteato-hepatite não alcoólica - Helena Cortez-Pinto.....9

DIAGNÓSTICO NÃO INVASIVO

- Métodos de imagem e testes não invasivos no diagnóstico da DHGNA - Edison Roberto Parise.....10
- Esteatose Hepática: diagnóstico através do Fibroscan®- Ana Carolina Ferreira Neto Cardoso.....11
- DHGNA e risco cardiovascular - Mário Reis Álvares-da-Silva11

TRATAMENTO CLÍNICO DO NASH

- Mudanças no estilo de vida - João Galizzi Filho.....12
- Sensibilizadores de insulina - Nathalie Carvalho Leite13
- Antioxidantes e antilipêmicos - Jorge André de Segodas Soares.....14
- Análise crítica do uso de AJDC na DHGNA - Helena Cortez-Pinto.....15
- NASH e carcinoma hepatocelular - Claudia Pinto Marques Souza de Oliveira15

TRATAMENTO CIRÚRGICO

- Obesidade grave e cirurgia bariátrica - Helma Pinchemel Cotrim.....16
- Transplante de fígado - Mário Reis Álvares-da-Silva17
- Tratar ou não tratar o paciente com DHGNA - Edison Roberto Parise18

PREVALÊNCIA E IMPORTÂNCIA DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA



Henrique Sérgio Moraes Coelho

Presidente da Sociedade Brasileira de Hepatologia.

Professor Adjunto de Clínica Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma entidade clínica patológica na qual ocorre excessivo acúmulo de triglicérides no fígado. Esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) representa a forma inflamatória que pode levar à fibrose avançada, cirrose e hepatocarcinoma.

Estudos epidemiológicos têm revelado que a DHGNA é um problema de saúde pública, acometendo 20-40% dos indivíduos testados na dependência da prevalência da obesidade na população estudada. Um estudo mais recente, realizado nos Estados Unidos, com 328 pacientes assintomáticos, relatou que 46% dos indivíduos tinham esteatose, 26% eram diabéticos, 68% hipertensos e 70% obesos.

No Brasil, estudos de Edison Roberto Parise e Helma Pinchemel Cotrim, utilizando a ultrassonografia (US) como método diagnóstico, encontraram em torno de 20% de esteatose hepática na população geral.

Quando pacientes diabéticos são avaliados pelo ultrassom em relação à presença de esteatose, 70% são portadores da doença. A grande importância da DHGNA é o seu potencial evolutivo para formas inflamatórias fibrosantes, e potencialmente para cirrose hepática e até mesmo carcinoma hepatocelular (CHC).

Enquanto uma esteatose isolada é benigna na imensa maioria dos casos, a EHNA pode evoluir em duas décadas para cirrose em até 20% dos pacientes (Matteroni, 1999). EHNA é considerada, hoje, uma importante causa de cirrose criptogênica.

DHGNA é considerada uma manifestação da doença metabólica, e sua prevalência eleva-se substancialmente com o aumento do índice de massa corporal (IMC) e a presença de diabetes *mellitus*. Assim, IMC > 35 e diabetes *mellitus* são considerados fatores de risco da evolução de esteato-hepatite para a cirrose.

Estudamos, na UFRJ, 366 pacientes com esteatose ao US, sendo que diabetes *mellitus* estava presente em 21%. Doença hepática avançada (esteatofibrose ou cirrose) foi encontrada em 36% contra 13% naqueles sem diabetes.

A cirrose considerada criptogênica é a terceira causa mais comum de transplante hepático nos EUA. A grande maioria desses pacientes tem história clínica sugestiva de doença gordurosa não alcoólica pela presença de obesidade e/ou diabetes de longa duração.

Quando 195 pacientes com cirrose por EHNA foram seguidos por cinco anos (MS, 2010), 25 (12,8%) evoluíram com desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC), o que indica uma incidência de 2,5% ao ano. População controle com cirrose por HCV apresentou incidência de 4% ao ano. O risco de desenvolver CHC foi maior em homens com idade avançada e diabetes *mellitus*. Em resumo, trata-se de doença silenciosa, bastante prevalente, associada a fatores metabólicos e com um crescente número de casos de cirrose e CHC sendo relatados. Mortalidade por hepatopatia é a terceira causa *mortis* entre pacientes com EHNA, comparada à décima causa na população geral.



DHGNA NO PACIENTE COM DIABETES MELLITUS

Nathalie Carvalho Leite

Médica do Serviço de Clínica Médica e do Ambulatório de Hepatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

O fígado é o sítio de produção e armazenamento de glicogênio, da gliconeogênese e da degradação de insulina. Sendo assim, o fígado tanto participa dos mecanismos fisiopatológicos do diabetes *mellitus* (DM) como sofre as consequências das alterações encontradas no metabolismo glicídico.

O diabetes *mellitus* tipo 2, caracterizado por maior resistência à insulina com resposta secretória inadequada, é responsável por 90 a 95% dos casos de DM. A sua prevalência vem aumentando exponencialmente, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2030 serão mais de 300 milhões de indivíduos com DM em todo o mundo. Complicações macro e microvasculares podem surgir ao longo dos anos, reduzindo a qualidade e a expectativa de vida do paciente portador de DM. As complicações cardiovasculares são as principais causas de morbidade e mortalidade nos pacientes diabéticos, mas há relato de mortalidade elevada neste grupo de pacientes por doença hepática crônica.

Depois da obesidade, o DM foi o fator de risco que mais se correlacionou à presença de doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), inclusive com formas mais graves de lesão histopatológica. Pacientes com DHGNA e DM compartilham vários mecanismos fisiopatológicos, como aumento da resistência à insulina, de citocinas circulantes e do estresse oxidativo. Estudos em pacientes diabéticos demonstraram prevalência elevada de DHGNA, variando entre 25% e 69,5%.

Targher e cols. acompanharam 2.839 pacientes com DM2 com o objetivo de estabelecer a prevalência de esteatose pela ultrassonografia abdominal (US) em pacientes com DM e, em seguida, avaliar a associação de doença cardiovascular com a presença de DHGNA numa grande coorte de diabéticos. A prevalência de DHGNA foi de 69,5% e pacientes com DHGNA apresentaram maior prevalência de complicações cardiovasculares (doença cerebrovascular, doença coronariana, doença arterial periférica). Essa associação foi independente de outros fatores de risco cardiovascular, como controle glicêmico, medicações prescritas e a presença de síndrome metabólica.

Em nosso primeiro estudo, encontramos uma prevalência de DHGNA pela US de 69,4% (Leite *et al.*, 2009). Demonstramos associação da presença de esteatose à US com todas as medidas antropométricas (medida da CA, relação cintura-quadril e IMC), os níveis de triglicérides séricos e da alanina aminotransferase. Dentre os pacientes submetidos à análise histológica (Leite *et al.*, 2011), 78% tinham esteato-hepatite e fibrose moderada e acentuada estiveram presentes em até 60% dos pacientes. Apenas 19% dos pacientes com esteato-hepatite apresentavam valores séricos das aminotransferases acima do normal. Não houve associação dos parâmetros de controle glicêmico, complicações degenerativas e tempo de diagnóstico do DM com a presença de esteatose a US, nem com a presença de esteato-hepatite e fibrose significativa à biópsia hepática. Em um estudo indiano com metodologia semelhante, a esteato-hepatite esteve presente em 62,6% dos pacientes e a fibrose moderada em 37,3% daqueles pacientes submetidos a BH. Os parâmetros de controle do DM, o tempo de diagnóstico do DM e as medidas antropométricas não foram capazes de prever a presença ou gravidade da DHGNA. Pacientes com esteato-hepatite tinham valores maiores de ALT, ainda que dentro da faixa da normalidade (Prashanth *et al.*, 2009).

Novas técnicas radiológicas, como a elastografia hepática transitória, podem ser úteis na determinação da extensão da fibrose em pacientes com DM. Estudos recentes encontraram medidas da rigidez hepática correspondentes à fibrose moderada e/ou acentuada em cerca de 30% de pacientes com DM tipo 2.

O impacto da presença de DM preexistente no carcinoma hepatocelular (CHC) não está estabelecido, embora alguns estudos venham demonstrando maior incidência e pior prognóstico do CHC em pacientes diabéticos. Acredita-se que a hiperinsulinemia predispõe ao desenvolvimento de neoplasia em vários órgãos. Nos estados de resistência à insulina, ocorre ação maior da insulina no receptor IGF-1, levando à proliferação celular (incluindo focos pré-neoplásicos) e inibição da apoptose. Células hepáticas são ainda mais expostas a níveis elevados de insulina pelo fluxo portal, o que poderia contribuir para a carcinogênese hepática. Como a presença de DM está associada com formas mais graves de lesão histopatológica pela DHGNA, o desafio nos próximos anos será estabelecer medidas de intervenção que possam reduzir o risco de progressão da doença hepática neste grupo de pacientes.



DHGNA NO PACIENTE COM OBESIDADE

Mário Reis Álvares-da-Silva

Professor Adjunto de Hepatologia. Mestre, Doutor e Pós-Doutor em Hepatologia.
Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
Professor Livre-Docente em Gastroenterologia Clínica pela Universidade de São Paulo, SP

Obesidade tem-se tornado mais frequente em todo o mundo e em todas as faixas etárias. Por sua vez, via resistência insulínica e síndrome metabólica, costuma estar intimamente associada à esteatose hepática. Atualmente, há um bilhão de adultos com sobrepeso no mundo, sendo que 300 milhões deles são indivíduos com $IMC \geq 30$. Nos EUA, em torno de 30% da população tem doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). De fato, a prevalência de esteatose hepática é diretamente proporcional ao índice de massa corporal. Isto fica ainda mais claro em obesos mórbidos, em que a prevalência de esteatose fica em torno de 76 a 91%, sendo que esteato-hepatite não alcoólica (NASH) ocorre entre 25 e 37% dos indivíduos. É interessante notar que a prevalência de DHGNA aumenta com a idade, mas crianças e adolescentes não são poupados. A obesidade é uma doença de acúmulo de triglicérides no tecido adiposo. Quando este atinge o seu limite de expansão começa a ocorrer acúmulo ectópico de gorduras, o que inclui o fígado. A obesidade visceral é a marca da expansão máxima do tecido adiposo – ela atesta que ele chegou ao seu limite.

A relação obesidade-DHGNA, no entanto, não é perfeita. Há obesos mórbidos com histologia hepática normal. Da mesma forma, há pacientes em que há apenas esteatose, sem evolução a NASH. Por que isto ocorre? Por que nem todos os casos evoluem? O fato é que a obesidade parece não ser o bastante para levar à doença. Outros fatores estão envolvidos, como a distribuição regional de gordura e a inflamação do tecido adiposo. Alguns estudos sugerem que a inflamação intestino-derivada está ligada à gênese da DHGNA. De fato, na população de maior risco, os obesos mórbidos, o supercrescimento bacteriano é ainda mais prevalente. A ação de inflamassomas e dos receptores TLR4 na gênese da doença tem sido demonstrada, o que abre caminho para intervenção terapêutica futura.



DHGNA NO PACIENTE PEDIÁTRICO

Marise Elia de Marsillac

Gastroenterologista Pediátrica do Hospital Municipal Jesus e do Hospital Federal dos Servidores do Estado. Professora de Pediatria da Escola de Medicina Souza Marques, Rio de Janeiro, RJ.

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), caracterizada pelo acúmulo de gordura no hepatócito, foi descrita na população pediátrica há três décadas. Desde então, em virtude de sua associação com a obesidade infantil, tornou-se uma das principais causas de doença hepática na criança. Com a prevalência de obesidade em ascensão, a população acometida pela DHGNA está em crescimento. A prevalência da DHGNA na população pediátrica varia de 2,6% a 9,6% se avaliada por método ultrassonográfico ou através de autopsias de pacientes com morte acidental. Em crianças obesas existe uma grande variabilidade de prevalência descrita, desde 15,7% a 77% de acordo com método utilizado ou com a idade, intensidade de obesidade e região geográfica avaliada. Em virtude das perspectivas futuras em relação ao aumento da obesidade e da DHGNA na criança, estudos multicêntricos com uniformização de métodos poderão ser necessários para estimativa da doença na população mundial. Os fatores de risco relacionados à DHGNA na criança são: ter idade superior a 10 anos, gênero masculino, presença de obesidade, resistência insulínica, hipertrigliceridemia, origem étnica (hispanicos e asiáticos com maior prevalência e afrodescendentes com aparente proteção), história pregressa de baixo peso ao nascer com rápida recuperação ponderal, além do consumo exagerado de frutose. O quadro clínico é semelhante ao da população adulta, com o diagnóstico realizado em crianças assintomáticas submetidas à avaliação clínico-laboratorial por outras indicações que não a suspeita de DHGNA. Podem estar presentes obesidade em 90% dos casos, dor abdominal difusa, astenia, hepatomegalia,

aumento da circunferência abdominal e/ou *Acanthosis nigricans*. O diagnóstico de DHGNA em crianças é realizado através de avaliação laboratorial (enzimas hepáticas, lipidograma completo, glicemia de jejum), métodos de imagem (principalmente ultrassonografia abdominal) e confirmado pela análise histopatológica de fragmento hepático. Como o resultado da biópsia hepática, apesar de confirmar o diagnóstico, não indica tratamento específico em pediatria, além das dificuldades inerentes ao método nessa população específica, outros marcadores de doença na criança têm sido estudados. As adipocinas secretadas pelo tecido adiposo parecem participar da evolução da doença e, portanto, estão sendo estudadas como possíveis biomarcadores para diagnóstico de DHGNA na criança, ainda sem resultados uniformes. O tratamento em crianças envolve perda ponderal (–10%) e modificação dos hábitos de vida com o aumento da atividade física. Estudos que avaliaram o uso de antecedentes não mostraram efeito benéfico na criança. O prognóstico é bom quando há perda de peso. A manutenção da esteatose não indica obrigatoriamente evolução para esteato-hepatite, podendo haver comportamento benigno da DHGNA. Estudo recente que avaliou história natural indicou risco de morte e de transplante hepático 13 vezes maior nas crianças que apresentavam biópsia hepática com DHGNA que na população pediátrica em geral. A identificação precoce da DHGNA e a prevenção da obesidade, principal fator de risco, são importantes como medida preventiva para melhora da expectativa e qualidade de vida em crianças, as quais serão os futuros adultos.



TAFILD OU NASH RELACIONADO À TOXICIDADE

Helma Pinchemel Cotrim

Professora Associada de Gastro-Hepatologia e Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia.

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), embora se associe com maior frequência à obesidade, diabetes *mellitus* e dislipidemia, pode também ter como fatores de risco produtos químicos, medicamentos e anabolizantes, entre outros. Recentemente, (Cave/2010) correlacionaram o diagnóstico de esteato-hepatite não alcoólica (NASH) com exposição ocupacional ao cloreto de vinil (CV), e sugeriram a denominação de TASH (toxicant-associated steatohepatitis) para esses casos. O estudo analisou retrospectivamente 25 biópsias hepáticas de trabalhadores expostos a CV, não obesos e sem história de alcoolismo. O TASH foi observado em 80% dos casos, 55% se associava a fibrose e um dos casos já apresentava cirrose. O estudo também mostrou que trabalhadores com TASH apresentavam alteração dos níveis de CK-18 e níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa e interleucinas 1B, 6 e 8) alteradas; reduzida atividade antioxidante, e em todas as 25 biópsias, esteatose, balonização e corpúsculos de Mallory-Denk. Entretanto, a relação de produtos químicos com a NASH, que a partir de agora será denominada de TASH ou TAFILD (toxicant-associated fatty liver disease) foi inicialmente sugerida em estudos realizados em uma área industrial na Bahia. Nesses estudos, trabalhadores expostos a produtos químicos, embora assintomáticos, apresentavam alterações de ALT, AST e GGT. Afastados outros fatores de risco para doença hepática, confirmou-se o diagnóstico histológico de TASH. Na microscopia eletrônica observou-se colestase, fibrose perissinusoidal e megamitocôndrias com cristais no seu interior sugerindo agressão tóxica. Estudo prospectivo realizado a seguir mostrou que após o afastamento dos trabalhadores da exposição (período médio de 12 meses) havia melhora das enzimas e histologia, incluindo a fibrose. Esses indivíduos apresentavam média idade de 42 anos (não expostos – 50 anos) e não apresentavam resistência à insulina (HOMA – IR) (Cotrim/1999; 2004; 2005). Estes resultados foram validados por estudos epidemiológicos realizados na mesma área industrial que confirmaram elevada prevalência de enzimas hepáticas entre os trabalhadores e um risco relativo (odds ratio) de 15 para desenvolvimento de TASH em trabalhadores expostos comparados aos não expostos (Carvalho/2001; Mendes/2005; Cotrim/2005). A associação entre exposição química, drogas e TAFILD/TASH também vem sendo sugerida por vários outros estudos (Michailova/1998); Saad/2000; Perez/2006; Cave/2011; Vauthey/2006). TAFILD foi também a denominação para a DHGNA associada ao uso de esteroides anabolizantes androgênicos (EAA) (Schwingel/2010; 2011). Através de um estudo caso-controle, 95 usuários de EAA e 85 controles (todos praticantes de atividade física regular) submeteram-se a uma avaliação clínica e laboratorial (perfil hepático, lipídicas, glicemia, insulina e CPK) e ultrassonografia abdominal. Foram diagnosticados como TAFILD aqueles indivíduos que preencheram os seguintes critérios: uso de EAA > dois anos; presença de esteatose na ultrassonografia e/ou alterações de ALT/AST com CPK normal; exclusão de condições metabólicas e outras doenças do fígado. As drogas utilizadas foram: testosterona, nandrolona, boldenona, metenolona entre

outras. Os resultados do estudo mostraram que todos os casos e controles eram assintomáticos; todos apresentavam índices antropométricos normais; não se observou RI nesses indivíduos com TAFLD (HOMA-IR casos $1,46 \pm 1,78$; controles $1,58 \pm 1,93$); critérios de TAFLD foram observados em 12,6% dos casos; risco relativo (odds ratio) foi igual a 6 (95% CI: 1,3-27,6). Em estudo mais recente, os mesmos autores observaram que é amplo o espectro de fatores de risco para doença hepática em usuários de EAA. Contudo, TAFLD foi um diagnóstico frequente. Dos 102 usuários de EAA avaliados, 56% apresentavam algum fator de risco: álcool em 40,0% dos casos; infecção VHB em 1,7%; infecção VHC em 1,7%; dislipidemia em 21%; hiperplasia nodular focal 1,5%; TAFLD 33,0%. Em conclusão, todos esses estudos mostram a atenção que se deve dar à investigação da TAFLD/TASH em indivíduos com história de exposição a agentes químicos ou uso de drogas potencialmente hepatotóxicas. A identificação precoce desses fatores de risco pode orientar melhor os pacientes e estabelecer medidas preventivas para indivíduos com maior risco dessa forma de doença hepática gordurosa não alcoólica.



Claudia Pinto Marques Souza de Oliveira

Professora Livre-Docente da Disciplina de Gastroenterologia e Responsável pela Pós-Graduação da Disciplina de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

ASPECTOS DA FISIOPATOGENIA

A fisiopatologia da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) primária não está completamente esclarecida, embora já se reconheçam diversos fatores predisponentes da DHGNA bem como aqueles associados à pior evolução da doença; a relação causal entre esteatose e esteato-hepatite, fibrogênese e cronicidade permanecem ainda pouco conhecidas. Sabe-se, atualmente, que a DHGNA é uma doença poligênica e multifatorial, na qual a associação de genes relacionados é exuberante e a participação do ambiente, relacionando a dieta e ao sedentarismo, também tem sua importância fundamentada. Desta forma, sua fisiopatogênese é bastante complexa e envolve múltiplos fatores, os quais, atualmente, a maioria dos autores acredita na teoria dos múltiplos *hits*, destacando-se a resistência insulínica (RI) como condição inicial para o acúmulo de ácidos graxos no hepatócito (first hit), uma vez que favorece a lipogênese e inibe a lipólise, até mesmo no fígado, aumentando excessivamente o aporte de ácidos graxos a esse órgão, seguida de uma sequência de eventos como o aumento do estresse oxidativo, estresse do retículo endoplasmático, disfunção mitocondrial e endotoxemia crônica (multiple hits). Este fígado esteatótico se tornaria vulnerável aos *multiple hits*, levando à lesão hepatocelular, inflamação e fibrose.

A deposição excessiva de gordura no fígado pode decorrer do aumento da oferta de ácidos graxos (AG) do tecido adiposo, aumento da síntese de novo de AG, aumento da gordura da dieta, diminuição da β -oxidação mitocondrial, diminuição da exportação de partículas de VLDL (very low density lipoprotein) ou destes fatores em combinação.

Por outro lado, na DHGNA a oxidação de AG mitocondrial e a exportação de VLDL não são compatíveis com o aumento da síntese de AG, levando à esteatose. Em indivíduos saudáveis, a oxidação mitocondrial é o mecanismo dominante de disposição de AG sobre condições fisiológicas normais, porém é uma grande fonte de espécies reativas de oxigênio (EROS). Vários estudos sugerem que na DHGNA a função mitocondrial está diminuída, devido a alterações ultraestruturais. Essas alterações resultam em uma oxidação-fosforilação defeituosa e uma disfunção na cadeia respiratória gerando um aumento de EROS. O estresse oxidativo se estabelece quando as defesas intracelulares antioxidantes são insuficientes para detoxificar as EROS ou, também, quando há produção excessiva de EROS. Dentro desse contexto, o aporte excessivo de ácidos graxos ao fígado pode promover esgotamento da oxidação mitocondrial e aumento na produção de EROS, bem como a ativação de outras vias de oxidação lipídica (via peroxissomal e microsomal) que geram, por sua vez, mais EROS, aumentando o estresse oxidativo hepático. Esse aumento pode causar peroxidação lipídica, cujos produtos intermediários são importantes agentes pró-inflamatórios e parecem ativar fibroblastos, favorecendo a fibrogênese (múltiplos *hits*). Assim, o estresse oxidativo induz necroinflamação e fibrose no fígado gorduroso. A indução de EROS é também acelerada sob condições de RI e as adipocitocinas também podem influenciar o segundo evento. Fatores genéticos como a presença de alguns polimorfismos em genes que codificam enzimas antioxidantes podem predispor o indivíduo a ter uma reduzida capacidade antioxidante e com isso desenvolver formas mais graves. Em resumo, a interação de fatores genéticos e ambientais são importantes na fisiopatogênese da DHGNA, por isso a grande dificuldade de tratar esta doença.

CONTROVÉRSIAS NO DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DA ESTEATO-HEPATITE NÃO ALCOÓLICA



Helena Cortez-Pinto

Unidade de Nutrição e Metabolismo, Faculdade de Medicina de Lisboa, Instituto de Medicina Molecular, Departamento de Gastroenterologia do Hospital Universitário de Santa Maria, Lisboa, Portugal

A esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) faz parte de um espectro alargado de doença que é a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). A definição histológica da DHGNA é fácil e não sujeita a controvérsia. Consiste na presença de depósitos gordurosos no citoplasma de mais de 5% dos hepatócitos. Não necessita de definição de localização, e existe em geral um bom acordo interobservador. No entanto, o que é de fato importante definir é a EHNA, uma vez que esta se tem associado à progressão da doença e ao aumento da mortalidade, quer de causa hepática quer da não hepática. Assim, a sua identificação permite dar informação de prognóstico ao doente e ainda identificar quem se beneficia de tratamento mais enérgico, ou ser incluído em protocolos de tratamento. Contudo, os critérios histológicos para a sua definição e a sua graduação têm sido alvo de forte controvérsia.

Em 1999, surgiram dois estudos seminais (Brunt *et al.*, Hepatology, 1999) que classificavam a EHNA em ligeira, moderada e grave, e Matteoni *et al.* (Hepatology, 1999) que classificaram em quatro subgrupos, baseados no tipo e gravidade das lesões: o tipo 1 caracterizado por esteatose isolada; o tipo 2 por esteatose e inflamação lobular; o tipo 3 caracterizado por esteatose e degeneração balonzante e o tipo 4 com estes aspectos e corpos hialinos ou fibrose.

Estes últimos dois tipos foram considerados como EHNA, e de fato quase toda a mortalidade se concentrou nestes dois grupos. Em 2005, Kleiner *et al.* (Hepatology, 2005) propuseram uma atualização da classificação de Brunt, definindo uma graduação da atividade (NAS score) baseada no grau de esteatose (0 a 3), inflamação lobular (0 a 3) e balonização (0 a 2). Quando esta soma era inferior a 3 verificava-se muito provável exclusão de EHNA e quando igual ou superior a 5, muito provável EHNA. Esta classificação foi proposta para estimar a gravidade das lesões, com o objetivo de avaliar, por exemplo, o efeito de uma terapêutica. No entanto, tem sido utilizada por grande número de investigadores como critério para definir se um doente tem ou não EHNA. Na sequência desta utilização indevida, Brunt *et al.* afirmaram que os critérios para o diagnóstico de NASH não podem ser definidos pela soma de variáveis numéricas que são utilizadas para a avaliação dos escores de atividade, e antes deve ser definido pela presença de um padrão específico de alterações histológicas. Para corroborar esta afirmação, analisaram uma grande série de doentes adultos do NASH *Clinical Research Network*, verificando de novo uma curva de correlação entre os resultados do score e a definição histológica, semelhante à da série inicial. No entanto, agora com números maiores, observou-se que uma percentagem importante de doentes, apesar de apresentarem um score menor ou igual a 4, têm um diagnóstico definitivo de NASH, confirmando assim que este score não deve ser usado para estabelecer o diagnóstico de NASH (Brunt *et al.*, Hepatology, 2011).

Em um outro estudo de 2011, Younossi *et al.* (Hepatology, 2011) compararam os dois escores do grupo de Brunt com dois escores, o inicial de Matteoni e outro que é uma adaptação deste, verificando que os escores de Brunt tinham menor acordo entre si que os de Matteoni e Younossi, e, ainda, que estes últimos prediziam melhor a mortalidade de causa hepática que os escores de Brunt/Kleiner (Younossi, Hepatology, 2011). Como resposta a este estudo, Brunt *et al.* afirmaram que o score NAS nunca teve intenção de prever a mortalidade. Este ano, os *guidelines* da *American Association for the Study of Liver - AASLD* propuseram que a EHNA seja definida pela presença de esteatose e inflamação hepática com lesão hepatocitária (balonização), com ou sem fibrose.

Em conclusão, parece-me que a balonização é indiscutivelmente um critério necessário para o diagnóstico histológico de EHNA, sendo a esteatose com graus variáveis de fibrose, na ausência de necroinflamação, mais controverso como critério. O NAS score deve ser usado para graduar a gravidade das lesões, mas não como critério de diagnóstico.

MÉTODOS DE IMAGEM E TESTES NÃO INVASIVOS NO DIAGNÓSTICO DA DHGNA



Edison Roberto Parise

Professor Associado e Chefe do Grupo de Fígado da Disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo.

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) varia desde a simples esteatose até a esteato-hepatite com fibrose e cirrose. A biópsia hepática é o padrão ouro na identificação das diferentes formas de apresentação da doença. A elevada prevalência de DHGNA torna impraticável a realização de biópsias em todos pacientes. Métodos não invasivos podem auxiliar e identificar pacientes com maior risco de apresentar as formas evolutivas da doença.

Os métodos de imagem são os melhores meios de se identificar a esteatose. O ultrassom representa o método mais prático e simples para esse diagnóstico, especialmente quando a esteatose excede 30%. Para esteatoses menos intensas (5 a 30%) a ressonância magnética com espectroscopia ou a RM de última geração (*dual gradient*) são métodos mais sensíveis.

A identificação das formas evolutivas da DHGNA é melhor realizada com os testes biológicos, que podem ser classificados como diretos (relacionados à síntese e degradação da matriz extracelular como colágenos, laminina, ácido hialurônico, metaloproteinases, CK-18) e indiretos (alterações bioquímicas como AST, ALT, GGT, plaquetas, albumina, presença de diabetes) e os mistos, em que há combinação dos dois tipos.

Na identificação da esteato-hepatite, a determinação sérica da citoqueratina 18 (CK-18, que avalia o grau de apoptose hepática), isoladamente ou associada a outros parâmetros, tem sido o teste com melhor acurácia para esse diagnóstico. Determinações que avaliam o estresse oxidativo, como a tioredoxina e a dosagem de ferritina, também podem auxiliar nessa diferenciação. Essas dosagens, no entanto, não estão disponíveis na prática clínica.

Para a identificação da presença de fibrose significativa (\geq F2), medidas do ácido hialurônico, laminina e TIMP, associadas a marcadores indiretos, têm mostrado melhor sensibilidade e especificidade; mas, de novo, são testes não disponíveis na prática diária.

O exame denominado Fibromax inclui o ASH teste, o Nashtest e o Fibrotest, mas também apresenta limitações, como a padronização dos testes bioquímicos, além de custo adicional. O mesmo se aplica para o Fibrometer.

No diagnóstico de fibrose avançada, vários testes simples podem ser empregados, como a relação AST/ALT, APRI (AST e plaquetas) teste de BARD (IMC, presença ou ausência de diabetes e relação AST/ALT), FIB 4 (plaquetas, idade, AST, ALT), NAFLD *fibrosis* score (albumina, plaquetas, idade, AST/ALT, diabetes ou intolerância à glicose e IMC). Esses testes têm a seu favor a simplicidade dos parâmetros envolvidos e do seu cálculo, além de baixo custo; entretanto, não são aplicáveis a toda população estudada (o NAFLD score, por exemplo, apresenta boa aplicação para os extremos, com mais de 90% de certeza da presença ou ausência de fibrose significativa, mas uma boa parte dos pacientes cairá em valores indeterminados) e em revisões independentes, foram melhores em afastar a presença de fibrose significativa (valor preditivo negativo em 90% ou mais) do que em confirmar a presença da fibrose avançada (valor preditivo positivo em torno de 30-50%).

A associação de testes bioquímicos com testes físicos, como a elastometria, poderá se constituir em melhor forma de avaliação da fibrose hepática desses pacientes.



ESTEATOSE HEPÁTICA: DIAGNÓSTICO ATRAVÉS DO FIBROSCAN®

Ana Carolina Ferreira Neto Cardoso

Médica do Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A crescente prevalência da esteatose hepática em todo o mundo, geralmente associada à obesidade, resistência insulínica e outros componentes da síndrome metabólica faz com que este seja hoje um grave problema de saúde pública. Tendo em vista sua importância, a detecção precoce desta alteração hepática adquire grande relevância. A identificação da esteatose em fases iniciais permite a aplicação de medidas comportamentais, dietéticas e até mesmo farmacológicas que podem evitar a progressão e facilitar a regressão das alterações hepáticas. Sendo assim, justifica-se a criação de novas ferramentas para avaliação da doença gordurosa do fígado.

Vários métodos não invasivos vêm sendo desenvolvidos para avaliar a presença e determinar a quantidade de esteatose hepática. A elastografia hepática transitória (EHT) foi proposta para avaliar a elasticidade tissular em pacientes com doenças hepáticas crônicas e estimar o grau de fibrose. O FibroScan® (Echosens, França) foi o primeiro dispositivo desenvolvido para medir a elasticidade hepática como alternativa à biópsia. Recentemente, um programa para detecção e quantificação da esteatose hepática foi desenvolvido e denominado *Controlled Attenuation Parameter (CAP)*, que é uma ferramenta baseada no FibroScan®. O princípio do CAP é a atenuação ultrassonográfica: a intensidade do ultrassom (US) diminui exponencialmente à medida que se propaga no meio. Esta atenuação depende da frequência do US e das propriedades do meio de propagação – controlando estas duas variáveis é possível detectar e quantificar a esteatose hepática. Para garantir a avaliação apenas do parênquima hepático, o CAP é somente avaliado se a medida do FibroScan® for válida (esta medida serve de guia no processo). Poucos estudos foram desenvolvidos até o momento, porém os mesmos têm mostrado boa acurácia para detecção e quantificação da esteatose. Esse novo método tem sido capaz de diagnosticar níveis tão baixos como 5% de esteatose. Percentuais mais elevados de esteatose podem ser determinados a partir de diferentes pontos de corte em variadas hepatopatias. Dessa forma, o CAP pode ser utilizado na avaliação e no acompanhamento do tratamento de portadores de esteatose.

DHGNA E RISCO CARDIOVASCULAR

Mário Reis Álvares-da-Silva

A síndrome metabólica, definida pela presença de obesidade central e aumento da circunferência abdominal acompanhadas de hipertensão arterial sistêmica, glicemia de jejum alterada e dislipidemia, tem importante associação com inflamação sistêmica e doença cardiovascular. Além disto, síndrome metabólica e resistência insulínica são os principais fatores causais de esteato-hepatite não alcoólica (NASH). Desta forma, não se deve estranhar a associação entre doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) e risco cardiovascular, posto que os fatores de risco para ambas são comuns. O que se discute é o que vem antes: ocorre doença cardiovascular pela síndrome metabólica ou ocorre doença cardiovascular pela DHGNA? Em outras palavras, a DHGNA seria um fator de risco direto? Não é fácil tentar discriminar estes fatores, uma vez que uma série de confundidores estão envolvidos, como estilo de vida, hábitos, dieta, fatores socioeconômicos e até a presença de infecções que levam a risco cardiovascular, como pelo vírus da hepatite C e HIV. No entanto, parece que a presença de DHGNA leva a maior risco de doença cardiovascular, mesmo em população de risco, como diabéticos e transplantados. A elevação da enzima GGT é um bom marcador laboratorial de risco cardiovascular. Estudos com marcadores de risco ou doença cardiovascular, como espessura da íntima-média da carótida e escore de cálcio coronariano através de tomografia computadorizada, atestam risco cardiovascular aumentado em pacientes portadores de NASH. Recente estudo brasileiro mostra que os pacientes com NASH apresentam perfil inflamatório bastante distinto de indivíduos controle e também elevação de marcadores de lesão endotelial, tais como sICAM-1, sVCAM-1 e e-selectina. A doença cardiovascular é importante causa de óbito na DHGNA. Avaliar risco cardiovascular nesta população é recomendável.



João Galizzi Filho

Professor Adjunto do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

Indivíduos portadores de resistência insulínica, síndrome metabólica e seus desdobramentos clínicos como as doenças cardiovasculares e a DHGNA apresentam componentes culturais, ambientais, genéticos, dietéticos, físicos e psicológicos que, em diferentes combinações, dificultam a correção de seus distúrbios. As limitações dos tratamentos farmacológicos, atualmente disponíveis para a DHGNA e sua variante principal, NASH, colocam as modificações no estilo de vida como prioridade maior da terapêutica. No entanto, a distância entre o discurso médico e a incorporação na prática das mudanças de estilo de vida é grande, sendo frequente motivo de frustração para o paciente e para o profissional que o assiste. Sabemos das dificuldades em promover mudanças constantes e duradouras em hábitos de vida já consolidados, sobretudo quando se trata de doença oligo ou assintomática e de aspectos ligados à alimentação e à prática de atividades físicas regulares.

A individualização de cada caso passa pela análise das dificuldades para que sejam incluídas na rotina, de modo regular e permanente, atividades físicas adequadas. Para isso, alguns objetivos devem ser colocados como algo constante, mas de certa forma flexível, evitando-se a rigidez que resulta, após certo tempo, em abandono das novas práticas. Para indivíduos de tendência sedentária ou que rejeitem exercícios físicos, é mais conveniente que possam variar, dentro de certos limites, o tempo de duração, os dias da semana, os locais e os tipos de atividades físicas, transformando-as, se possível, em algo prazeroso, do que se sentirem induzidos à prática rígida por tempo, horário e dias predeterminados. Por outro lado, o fato de as atividades físicas regulares promoverem sensação de bem-estar e melhoria da resposta à insulina não deve ser motivo para que o paciente negligencie a importância da perda de peso. Sugere-se que o paciente faça exercícios físicos que induzam aumento da frequência cardíaca por 30 a 40 minutos ao dia, quatro a cinco dias por semana, lembrando, por outro lado, que para os refratários, algum nível de atividade física é certamente melhor que nenhum. Estas dificuldades práticas exigem que novas formas de abordagem sejam desenvolvidas.

Com relação às mudanças nos hábitos alimentares, a ênfase deve ser dada às modificações na relação do paciente com o ato de se alimentar, ao invés da imposição de dietas com redução radical de algum componente, como, por exemplo, com grande redução do teor de carboidratos, cuja eficácia a longo prazo não foi confirmada em vários estudos. Resultados duradouros têm sido alcançados por “grupos de ajuda” com programas de perda de peso. Os conhecimentos atuais sugerem que se deva evitar bebidas com maior teor de açúcar ou de frutose, assim como evitar gorduras saturadas/trans, aumentando-se a ingestão de gorduras poli-insaturadas, especialmente ácidos graxos ômega-3. Alimentos com elevadas taxas de calorias (fast food) e o hábito de alimentar-se rapidamente devem ser evitados. Com efeito, a alimentação rápida acompanha-se quase sempre de ingestão compulsiva de alimentos, neutralizando os esforços para perda de peso que, de acordo com dados disponíveis, deve ser, em princípio, de cinco a 10% do peso inicial.

Estas desafiadoras propostas para introduzir hábitos de vida saudáveis e benéficos ao controle da DHGNA requerem, com frequência, abordagem multidisciplinar, com participação de profissionais capazes de auxiliar nos diferentes aspectos envolvidos. No entanto, a atuação de uma equipe multiprofissional não deve diluir o compromisso do profissional médico para com o indivíduo, enfraquecendo a relação médico-paciente ou sendo fator complicador para ele.

A DHGNA e a NASH constituem-se, pois, em complexo e crescente problema mundial de saúde, a desafiar nossa capacidade científica e de adequação sociocultural no tempo presente e em décadas futuras. Sua prevenção demanda, por certo, profunda reflexão crítica sobre os princípios que norteiam formas, estilos e hábitos de viver na sociedade contemporânea.

A insulina aumenta a captação periférica de glicose, reduz a gliconeogênese hepática e promove o armazenamento de triglicérides no tecido adiposo. A resistência à insulina, que tem papel central no desenvolvimento da DHGNA, leva a efeitos contrários no metabolismo de carboidratos e lipídios. A resistência à ação da insulina no tecido adiposo leva a um nível elevado de ácidos graxos na circulação sanguínea, com subsequente acúmulo e toxicidade nos músculos, fígado e células β do pâncreas. Em condições normais, o fígado se defende do excesso de ácidos graxos pela esterificação e formação de triglicérides, oxidação mitocondrial ou pela síntese e liberação de VLDL. A esteatose hepática se forma quando os mecanismos de degradação não conseguem compensar a captação e síntese de ácidos graxos.

Simultaneamente, a resistência à insulina leva à hiperglicemia pelo aumento da gliconeogênese e glicogenólise hepática e redução da captação no músculo estriado. Em resposta à hiperglicemia e ao nível elevado de ácidos graxos circulantes, as células β do pâncreas aumentam a sua produção de insulina, e esse processo continua até que o aumento do suprimento de insulina não seja mais capaz de superar a redução de sua ação. Além disso, o estado de hiperinsulinemia reduz a sua própria ação ao nível de seus receptores no músculo e no fígado. Por fim, há o declínio da secreção de insulina pela toxicidade das células β do pâncreas e o aparecimento de DM2 em indivíduos com predisposição genética.

Pela importância da resistência à insulina na patogênese da DHGNA, foram avaliados fármacos que elevam a sensibilidade à insulina no tratamento desta condição, em pacientes com e sem DM. Entretanto, a maioria dos estudos incluiu um número inadequado de pacientes, por curto período de acompanhamento, sem avaliação histológica e sem grupo controle.

Maior destaque vem sendo dado às glitazonas, as quais atuam reduzindo a produção e aumentando a oxidação de ácidos graxos. Desse modo, ocorre a redistribuição da gordura para o tecido adiposo, aumentando a sensibilidade à insulina no fígado e músculo. Os efeitos colaterais mais frequentes das glitazonas são o ganho ponderal de 2 a 5kg e a perda óssea em mulheres no período após a menopausa. Há relato de maior mortalidade cardiovascular e infarto agudo do miocárdio relacionado ao uso de rosiglitazona; mas, ao contrário, menor incidência de eventos isquêmicos com o uso de pioglitazona. Um estudo recente francês descreveu maior risco de neoplasia de bexiga em pacientes que usavam pioglitazona. O risco aumentava com a dose e tempo de uso superior a dois anos. O maior benefício da utilização das glitazonas reside na redução dos níveis séricos das aminotransferases e da esteatose hepática. Três estudos com pioglitazona foram randomizados com grupo controle e incluíram um número mínimo de 50 pacientes e avaliação histológica ao final do tratamento (Belfort *et al.*, 2006; Aithal *et al.*, 2008; Sanyal *et al.*, 2010). Em todos os estudos houve melhora da atividade necroinflamatória (Belfort *et al.*, 2006; Aithal *et al.*, 2008; Sanyal *et al.*, 2010), enquanto apenas Aithal *et al.* comprovaram redução da fibrose hepática (Aithal *et al.*, 2008).

Outra medicação utilizada para o tratamento do DM – a metformina – foi estudada na DHGNA. A metformina reduz a produção de glicose hepática ao mesmo tempo que aumenta a sua utilização periférica no músculo esquelético. Em estudos randomizados com metformina e dieta x dieta houve melhora dos níveis séricos de aminotransferases e da esteatose em exame de imagem (Uygun *et al.*, 2004; Nadeau *et al.*, 2009). Não houve diferença da presença de esteatose detectada por ultrassonografia abdominal entre os pacientes que utilizaram metformina ou apenas dieta e atividade física no estudo de Nar *et al.* (Nar *et al.*, 2009). Foram avaliadas diferentes doses por um período de seis até 12 meses, sem melhora significativa dos parâmetros histológicos (Uygun *et al.*, 2004; Haukeland *et al.*, 2009; Shields *et al.*, 2009; Schwimmer *et al.*, 2011). Dois estudos do tipo caso-controle demonstraram redução do risco relativo de carcinoma hepatocelular tanto em cirróticos diabéticos (Donadon *et al.*, 2010) como em pacientes diabéticos tratados com metformina (Hassan *et al.*, 2010). Há também outras vantagens na utilização da metformina, como redução: de 4 a 8% do peso; do risco de desenvolvimento de diabetes; do risco de complicações cardiovasculares, independente da redução dos níveis glicêmicos. Os principais efeitos colaterais são náuseas, desconforto abdominal e diarreia. Não deve ser prescrita em pacientes com insuficiência renal (maior que o estágio 3) e em insuficiência cardíaca avançada.

Os análogos de GLP-1 e inibidores de DPP-4 (a enzima que degrada o GLP-1) aumentam os níveis de GLP-1, que estimulam fisiologicamente a insulina, suprimem a secreção do glucagon e retardam o esvaziamento gástrico, promovendo a saciedade. Há estudos em curso com esses novos fármacos, randomizados, incluindo pacientes com e sem diabetes com previsão de seguimento por longo prazo e avaliação histológica ao término do acompanhamento.

Por fim, será importante identificar: os parâmetros metabólicos que se associam com a melhora histológica e que possamos utilizar como monitorização da resposta ao tratamento; os fatores clínicos, laboratoriais e genéticos que selecionem os melhores candidatos ao tratamento com agentes sensibilizadores de insulina.



Jorge André de Segadas Soares

Professor Adjunto do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Coordenador do Ambulatório de Hepatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A prevalência da esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) na população adulta é de 3 a 5%; porém, nos obesos ou diabéticos a prevalência varia entre 20 e 40%. Seus principais fatores de risco são obesidade, hiperlipidemia e alterações no metabolismo da glicose (resistência insulínica e diabetes *mellitus*).

Pacientes com EHNA apresentam menor sobrevida quando comparados com a população geral, sendo que as principais causas de mortalidade nestes pacientes são os eventos cardiovasculares, neoplasias extra-hepáticas e complicações da hepatopatia crônica (cirrose e CHC). Nestes pacientes devemos tratar os fatores de risco associados, diminuindo assim a incidência das complicações cardiovasculares e hepáticas. Não existe um tratamento específico para a EHNA.

Entre as drogas que vêm sendo mais estudadas estão os antioxidantes e os hipolipemiantes. As estatinas foram testadas em diversos estudos e os achados não têm sido consistentes, porém sabemos que são medicamentos bem tolerados e seguros nos pacientes com EHNA, geralmente melhoram o perfil lipídico e as aminotransferases e diminuem a incidência de eventos cardiovasculares (que são a principal causa de morte neste grupo de pacientes). Há indícios de que podem melhorar a função renal, ter efeito anti-inflamatório e que podem piorar a tolerância à glicose. As estatinas mais estudadas foram a sinvastatina e a atorvastatina. Os achados de melhora na biópsia hepática não têm sido homogêneos: podem melhorar o grau de esteatose e/ou a inflamação e/ou a fibrose hepática. As estatinas são baratas, seguras e atuam sistemicamente diminuindo os eventos cardiovasculares, podendo ser empregadas nos pacientes com EHNA com dislipidemia. Não estão aprovadas como uma classe de medicamentos específicos para o tratamento da EHNA.

Antioxidantes têm sido estudados no tratamento da EHNA com base na fisiopatologia da doença. Espera-se que a suplementação de vitamina E tenha função antioxidante se ligando a elétrons livres e, portanto, estabilizando radicais livres e diminuindo a peroxidação lipídica intra-hepatocitária. O principal estudo avaliando o uso da vitamina E foi de Sanyal *et al.* (N Engl J Med 2010;362:1675-85) que randomizou 247 adultos com EHNA sem diabetes em três braços: 80 receberam 30mg/dia de pioglitazona, 84 receberam 800UI/dia de vitamina E e 83 receberam placebo por 96 semanas. Os pacientes foram biopsiados antes e 222 dias após o tratamento. Os resultados mostraram que a vitamina E foi superior ao placebo (43 *versus* 19%; $p = 0,001$) e que também houve melhora na comparação entre pioglitazona e o placebo (34% *versus* 19%; $p = 0,04$). Tanto a vitamina E como a pioglitazona diminuíram as aminotransferases, a esteatose hepática e a inflamação lobular, porém não houve melhora na pontuação da fibrose ou na inflamação portal.

O estudo TONIC (JAMA 2011;305:1659-68) avaliou 173 crianças entre oito e 17 anos com EHNA comprovada por biópsia hepática. Foram randomizados em três grupos: vitamina E 800UI/dia, metformina 1.000mg/dia ou placebo. Os resultados não mostraram que a vitamina E ou a metformina fossem melhores do que o placebo nesta população pediátrica. Este estudo apresenta uma série de restrições metodológicas e se aplica a uma população pediátrica.

Em resumo, o tratamento farmacológico da EHNA ainda não está estabelecido. Devido à patogênese multifatorial desta doença, provavelmente, será necessária a combinação de drogas agindo em diferentes mecanismos de agressão ao fígado. As drogas hipolipemiantes, em especial as estatinas, podem ser utilizadas nos pacientes com dislipidemia. Entre as drogas antioxidantes, a mais estudada é a vitamina E com resultados não homogêneos nos estudos. Deve ser usada com cautela até que tenhamos mais estudos sobre sua eficácia e segurança.

ANÁLISE CRÍTICA DO USO DE AUDC NA DHGNA

Helena Cortez-Pinto

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é atualmente a causa mais frequente de elevação das aminotransferases nos países ocidentais. A esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), que corresponde a uma percentagem de largo espectro da DHGNA, associa-se a um aumento da mortalidade de todas as causas e de causa hepática. Não existe atualmente um tratamento farmacológico, aprovado para a EHNA. É fundamental encontrar fármacos que sejam eficazes no tratamento da doença. De fato, apenas a alteração dos estilos de vida e a perda de peso mostraram ser eficazes, sendo, no entanto, muito difíceis de implementar na prática clínica.

Há vários anos existe grande interesse pela utilização do ácido ursodesoxicólico (AUDC) na EHNA. De fato, o AUDC é um ácido biliar hidrofílico, natural, que habitualmente constitui cerca de 3% da bílis humana. São variados os potenciais efeitos benéficos do AUDC, incluindo efeito imunomodulador, efeito antiapoptótico e efeito de redução da citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral. Parece também melhorar a resistência às espécies reativas de oxigênio, e em reduzir a progressão de fibrose. Ao atuar em nível dos principais mecanismos patogênicos da doença, seria de esperar que reduzisse ou invertesse a sua progressão.

De fato, Laurin *et al.* (Hepatology, 1996) relataram num estudo aberto com 40 doentes que o AUDC na dose de 13-15mg/kg/d melhorava as provas hepáticas e o grau de esteatose, quando comparado com o clofibrato. No entanto, em 2004, um ensaio randomizado controlado com 166 doentes constatou que dois anos de tratamento com AUDC na dose de 13-15mg/kg/d, apesar de seguro e bem tolerado, não era melhor que o placebo em doentes com EHNA (Lindor *et al.*, Hepatology, 2004). Um outro ensaio, com dois anos de duração, comparou AUDC mais vitamina E com AUDC isolado ou placebo, observando que a combinação era mais eficaz na redução da ALT e da esteatose do que os outros dois tratamentos (Dufour *et al.*, Clin Gastroenterol Hepatol, 2006).

Posteriormente, considerando-se que os resultados eram controversos e que poderia haver uma relação dose/efeito (Leuschner *et al.*, Hepatology, 2010), realizou-se um estudo em que foram avaliados 185 doentes sujeitos a tratamento com AUDC em alta dose (AD): 23-28mg/kg/dia, durante 18 meses, verificando-se nos 139 doentes que repetiram biópsia, uma melhoria significativa do escore histológico de inflamação lobular, $p < 0,005$, mas não do escore histológico global; verificou-se também uma melhoria da GGT mas não de outros parâmetros bioquímicos. Ratziu *et al.* (J Hepatol, 2011) realizaram um ensaio com a utilização de AUDC-HD: 28-35mg/kg/dia, durante 12 meses, em 126 doentes, verificando que o AUDC-AD levava a uma intensa e sustida redução dos níveis médios de ALT (28,6 *versus* 1,6%, $p < 0,001$), quando comparado com o placebo. Também verificou-se mais frequente normalização da ALT (24,5 *versus* 4,8%, nos doentes tratados com AUDC-AD. Simultaneamente, observou-se uma redução do Fibrotest* (marcador de fibrose), quando comparado com o placebo ($p < 0,001$). Verificou-se também uma melhoria dos parâmetros de controle glicêmico e resistência à insulina. O conjunto dos resultados destes ensaios sugere que o AUDC em monoterapia e na dose *standard* parece não demonstrar eficácia no tratamento da EHNA. No entanto, a sua utilização em combinação com a vitamina E poderá ser útil. A utilização em alta dose parece também ter um efeito muito benéfico, pelo menos em um dos estudos, sobretudo na redução da inflamação, com simultânea e inesperada melhoria dos parâmetros de resistência à insulina.

NASH E CARCINOMA HEPATOCELULAR

Claudia Pinto Marques Souza de Oliveira

O carcinoma hepatocelular (CHC) é o quinto câncer mais frequente no mundo, responsável por cerca de 5% de todos os tumores malignos em humanos. Um aumento da incidência do CHC tem sido observado nos últimos anos em vários países, incluindo Estados Unidos, Europa e Japão. A maioria dos casos de CHC surge na presença de doença hepática crônica avançada, relacionada principalmente ao vírus da hepatite C (VHC), vírus da hepatite B (VHB) e abuso de álcool (OH). Cerca de metade deste aumento é atribuída à exposição ao VHC ocorrida nas décadas de 1960 e 1970. Entretanto, aproximadamente 15 a 50% dos casos de CHC permanecem idiopáticos, sugerindo que outros fatores de risco são responsáveis pelo aumento do CHC. A cirrose criptogênica (CC) é vista em cerca de 5 a 30% dos pacientes com doença hepática avançada. Estudos

recentes sugerem que a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) possa estar relacionada a muitos destes casos “idiopáticos”. A EHNA é uma doença hepática de progressão lenta que pode levar à cirrose e insuficiência hepática. Sua importância vem aumentando nos últimos anos devido à alta prevalência no mundo todo.

A maioria dos casos de CHC na DHGNA é diagnosticada em pacientes com cirrose de longo tempo. Não está claro, entretanto, se o processo neoplásico começa durante a cirrose ou em estágios mais precoces da doença hepática. De fato, a esteatose *per se* e os mecanismos fisiopatológicos da EHNA podem ter um potencial carcinogênico. Durante o processo neoplásico, a hiperplasia epitelial e a displasia geralmente precedem o câncer por muitos anos. Entretanto, em humanos o CHC nunca foi diagnosticado num fígado puramente esteatótico. Em camundongos ob/ob resistentes à insulina e obesos, o CHC surge na ausência de cirrose. Recentemente, foi demonstrado que camundongos ob/ob apresentam proliferação de hepatócitos aumentada em relação à apoptose, sugerindo que este desequilíbrio promova aumento da massa hepática. Dada a ausência de inflamação ou fibrose, esses dados sugerem a possibilidade de sobrevivência celular promovida pela resistência à insulina, podendo contribuir para a hepatocarcinogênese.

Embora os eventos moleculares que conduzem ao CHC necessitem ser melhor definidos, as principais fases do desenvolvimento do câncer (iniciação, promoção, progressão) têm clara correlação com a fisiopatologia da EHNA. A obesidade, por si só, está associada com resistência à insulina e elevação dos fatores de crescimento *insulina-like*, que atuam como mitógenos para estimular o crescimento celular. Além disso, a obesidade também está associada com hiperestrogenemia, que também é implicada na proliferação de hepatócitos.

A proliferação de células ovais (células progenitoras de hepatócitos que têm sido implicadas como células de origem em vários tipos de tumores do fígado) tem sido observada tanto em pacientes com DHGNA como em estudos experimentais. Por outro lado, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e danos oxidativos do DNA juntamente com sinais moleculares de crescimento podem fornecer material essencial para o desenvolvimento de CHC. O estresse oxidativo contribui para mutações de genes reguladores, tais como genes supressores tumorais como o p53 e PTEN (*phosphatase and tensin homolog*). Também, a produção aumentada de EROS pode resultar no aumento da oxidação de ácidos graxos no retículo endoplasmático ou em peroxissomos, e isto poderia resultar na modulação de receptor alfa do peroxissomo proliferador ativado (PPAR-alfa) por lipídios intra-hepáticos. A ativação sustentada de PPAR-alfa induz CHC em ratos e camundongos que não têm oxidase acil-CoA gordurosa (AOX), PPAR-alfa e PPAR/alfa/AOX, provavelmente via ativação transcricional dos genes reguladores do PPAR-alfa e geração de EROS.

A identificação de um subgrupo de pacientes com hepatopatia crônica com maior risco de desenvolver CHC é importante para selecionar os pacientes que necessitem de monitorização mais intensiva, além de poder dar informações relacionadas à hepatocarcinogênese e buscar novas estratégias terapêuticas. Nos pacientes com hepatite C crônica, alguns fatores de risco já foram identificados: sexo masculino, idade mais avançada, abuso de álcool etc. Já sobre pacientes com EHNA, há poucos trabalhos; contudo, os mesmos sugerem que pacientes mais idosos, sexo masculino e a presença de diabetes e obesidade são fatores de risco para o CHC. A presença de cirrose associada à EHNA também confere um importante fator de risco para o desenvolvimento de CHC e um prognóstico ruim, porque as opções terapêuticas são limitadas na presença de idade mais avançada e outras comorbidades. O papel relativo de cirrose, esteatose e desarranjos metabólicos na hepatocarcinogênese precisa ser elucidado. Um melhor entendimento dos determinantes genéticos e metabólicos de crescimento e diferenciação dos hepatócitos pode levar ao desenvolvimento de novas terapias farmacológicas. Atualmente, os principais esforços devem ser direcionados para a prevenção da EHNA pela promoção de práticas alimentares saudáveis e atividade física e rastreamento de CHC em pacientes com EHNA, para que, se diagnosticado precocemente, exista tratamento eficaz.

OBESIDADE GRAVE E CIRURGIA BARIÁTRICA

Helma Pinchemel Cotrim

A obesidade, resultado de hábitos alimentares inadequados e sedentarismo, sob a influência do *background* genético, é hoje considerada uma epidemia mundial. Estima-se em 500 milhões o número de pessoas obesas em todo o mundo, e um bilhão com sobrepeso (WHO/ 2011). No Brasil, a estimativa é de 20 milhões de obesos e de 40 milhões de pessoas com sobrepeso (IBGE 2008).

A Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) é uma das mais frequentes da atualidade. Estima-se sua prevalência em 20 a 30% da população mundial. Em obesos, a prevalência estimada é de 75 a 80%, e nos obesos graves (IMC $\geq 35\text{kg/m}^2$) de 90 a 100% (Bedogni/2005; Ratziu/2010). Nesses casos a DHGNA se associa com a hipertensão arterial, diabetes, dislipidemia (síndrome metabólica) e maior risco de doenças cardiovasculares.

O tratamento da DHGNA inclui medidas comportamentais, controle dos fatores de risco, drogas, cirurgia bariátrica (CBA) e transplante hepático. Cirurgia bariátrica e tratamento da DHGNA: Quando indicar? Por que indicar? Qual o impacto da cirurgia?

Quando indicar: pacientes com $IMC > 40\text{kg/m}^2$; $IMC > 35\text{kg/m}^2$ associado a comorbidades; obesos que não obtiveram sucesso comprovado de tratamentos clínicos (NIH/Consensus Conference/91).

Porque indicar: é elevada a frequência de complicações cardiovasculares, metabólicas, neoplásicas, psicológicas e sociais em obesos graves; é elevada a mortalidade precoce desses indivíduos (12x maior entre 25-34 anos e 6x maior entre 34-44 anos); maior tolerância e menos complicações com as técnicas cirúrgicas atuais.

Nos obesos graves, a DHGNA é, em geral, assintomática, mas o espectro da doença é amplo. Varia de esteatose a cirrose. Nesses pacientes, o tratamento clínico da DHGNA é pouco eficaz. A perda de peso estimada é de 2-10% ao ano, tornando difícil o controle a DHGNA.

Em estudo realizado na Bahia, a avaliação de 141 obesos graves mostrou que a ausência de sintomas ou sinais de doença hepática em 100% dos casos e ALT e AST foram normais em 72% e 88% dos pacientes, respectivamente. Entretanto, a biópsia hepática mostrou esteato-hepatite com fibrose em 74,5% e um caso de cirrose (Bittencout/2007). Uma revisão de 12 estudos observacionais e de corte transversal, totalizando 1.620 obesos que realizaram cirurgia bariátrica e biópsia hepática, mostrou esteato-hepatite em 37% e cirrose em 1,7% (Machado M/2006). A divergência destas prevalências da DHGNA nos diversos estudos tem sido explicada pelos diferentes critérios utilizados no diagnóstico histológico, pela experiência do patologista, número e tamanho dos fragmentos, e pelo fato de terem sido realizadas mais de uma biópsia em diferentes segmentos do fígado (Arum/2007; Pedrosa/2007).

Impacto da CBA no tratamento da DHGNA: são vários os estudos que mostram melhora de parâmetros clínicos laboratoriais, metabólicos e histológicos dos pacientes com DHGNA pós-CBA. Entre eles, um estudo realizado na Bahia mostrou em 40 obesos graves com *follow-up* médio de 21 meses e após uma perda de peso média de 46kg, melhora de todos os parâmetros metabólicos e melhora das enzimas assim como melhora dos marcadores de gravidade utilizando os escores HAIR, BAAT e FLI (Andrade/2008). A avaliação de 381 pacientes pós-CBA com controle histológico no primeiro e no quinto ano (Mathurin/2009) mostraram: melhora da esteatose e balonização; embora a fibrose tenha permanecido 95%, a maioria apresentava grau I (F1); diminuição dos casos de esteato-hepatite, de 27,4 para 14,2%. A melhora da DHGNA foi observada no primeiro ano de *follow-up*, persistiu por cinco anos, e houve correlação com a resistência à insulina (RI). A piora da fibrose foi associada com maior IMC, maior gravidade da DHGNA na biópsia inicial, e maiores índices de RI.

Em conclusão, a CBA pode contribuir no tratamento de pacientes com DHGNA no obeso grave; entretanto, deve ser indicada obedecendo critérios estabelecidos. Medidas comportamentais e controle das condições associadas à obesidade, recomendadas a todos pacientes com DHGNA, devem ser mantidas após a CBA.

TRANSPLANTE DE FÍGADO

Mário Reis Álvares-da-Silva

Nos últimos anos, com o aumento da expectativa de vida em pacientes transplantados, têm surgido novas complicações, dentre elas a síndrome metabólica, que costuma ocorrer com frequência após um período variável de meses a anos. De fato, pacientes transplantados estão sob alto risco metabólico, em decorrência de fatores tais como diabetes *mellitus* pré-transplante, dieta inadequada, sedentarismo, uso de imunossupressores e a inflamação crônica e intrínseca do próprio transplante. Assim, é fácil compreender porque a prevalência de fatores da síndrome metabólica cresce tanto no período pós-transplante (de 5,4% em candidatos a transplante a 51,9% em receptores). Se isto não bastasse, a esteato-hepatite não alcoólica (NASH) vem-se tornando causa frequente de transplante hepático. Ela é hoje a terceira causa de transplante nos Estados Unidos, sendo que na última década foi a única indicação de transplante que teve sua frequência aumentada. Os pacientes com NASH tendem a ser mais do sexo feminino, com idade mais avançada e índice de massa corporal superior, além de terem mais comorbidades, como diabetes *mellitus* e hipertensão arterial. Em linhas gerais, o indivíduo transplantado por NASH tem sobrevida semelhante a outras causas, mas é notável que a mortalidade cardiovascular seja maior neste grupo. Ademais, estão sob risco de evolução a NASH de novo no enxerto. Assim, deve-se tentar combater a síndrome metabólica nesses indivíduos. As estratégias envolvem controle intensivo da glicemia no período pós-transplante, uso de estatinas (em especial se já usadas antes do procedimento), o uso judicioso de imunossupressores, mantendo baixa a imunossupressão e a adequando conforme a situação clínica e a vigilância de NASH de novo através de ultrassonografias protocolares e biópsia hepática em casos selecionados. O tratamento de NASH de novo ainda é limitado e envolve medidas não farmacológicas, medicamentosas ou até cirúrgicas.

TRATAR OU NÃO TRATAR O PACIENTE COM DHGNA

Edison Roberto Parise

Frequentemente, afirma-se que não há tratamento para pacientes com DHGNA. Mas seria conveniente perguntar se devemos tratar o doente ou a doença? Se realmente não há tratamento eficaz? E se tratar o paciente envolve apenas medicamentos para o fígado ou um conjunto de ações?

A DHGNA acomete 20 a 30% da população mundial e a esteato-hepatite é hoje a principal causa de doença crônica nos EUA e uma das principais causas de carcinoma hepatocelular em todo mundo. Por outro lado, os pacientes com DHGNA, mesmo os que apresentam esteatose simples, são frequentemente dislipidêmicos, hipertensos, com intolerância à glicose ou diabéticos e portadores de síndrome metabólica; portanto, pacientes com risco aumentado de doenças cardiovasculares. Alguns estudos afirmavam que só pacientes com esteato-hepatite apresentavam aumento do risco CV; estudos mais recentes demonstram aquilo que já esperávamos, a histologia não define o risco. Estudo da Associação de Cardiologia Americana, selecionou pacientes com síndrome metabólica e esteatose e elevação das enzimas hepáticas para receber tratamento com mudança do estilo de vida (dieta e atividade física) e tratamento dos componentes da SM (atorvastatina nas dislipidemias, metformina para os intolerantes à glicose, anti-hipertensivos e orlistat para obesos). Ao final de 42 meses de seguimento, houve redução significativa dos eventos CV esperados e resolução da DHGNA em cerca de 80% dos casos. Também sabemos que esses pacientes estão mais sujeitos a evoluir para o diabetes *mellitus* e já estão demonstrando que modificações no estilo de vida (dieta e exercícios) e a metformina, além de reduzir significativamente a esteatose, também reduz o risco de progressão para diabetes. Obviamente, não é necessário ser hepatologista para tratar esse paciente, mas é inegável que os hepatologistas muitas vezes têm o primeiro contato com esse paciente.

Os pacientes com esteato-hepatite, sem ou com fibrose inicial, também respondem à dieta e à atividade física, mas podem se beneficiar do tratamento com drogas que ainda não apresentam nível de evidência científica comprovada como o Ômega 3, probióticos para aqueles com dispepsia fermentativa, antilipêmicos, para os que apresentam hipertrigliceridemia ou hipercolesterolemia etc.

Pacientes com fibrose avançada F3, F4 são, sem dúvida, os pacientes que requerem o tratamento com hepatologista. Estudo no Reino Unido mostra que, em período médio de evolução de 50 meses, 11% evoluíram para óbito, 3% foram transplantados e 8% desenvolveram CHC. O ácido ursodesoxicólico em altas doses tem sido colocado como droga antiapoptótica no tratamento desses pacientes no consenso da EASL, especialmente em associação com outros medicamentos. A utilização de antioxidantes, especialmente vitamina E, em estudos randomizados, duplo cego, reduziu a atividade inflamatória e em 30% dos casos houve regressão de esteato-hepatite (evidência 1B) enquanto a glitazona, especialmente a pioglitazona, além de estudos controlados, ainda apresenta duas meta-análises que atestam sua eficácia (evidência 1A) inclusive com redução da fibrose em pacientes não diabéticos. Por outro lado, a utilização de glitazonas e de metformina tem sido associada à redução da incidência de CHC na hepatite C e no diabetes *mellitus*.

É importante lembrar que a utilização dessas drogas apresenta efeitos colaterais. O uso de pioglitazonas tem sido associado ao maior risco de carcinoma de bexiga após dois anos de uso contínuo e a vitamina E com AVC hemorrágico (mas não isquêmico) em pacientes tabagistas com idade entre 50-69 anos. No entanto, estudos com esses medicamentos na DHGNA em períodos de até dois anos não evidenciou essas complicações e podem ser utilizados no tratamento de pacientes com fibrose avançada durante esse período.

Finalmente, os estudos mostram que a cirurgia bariátrica é indicada para o tratamento dos pacientes com DHGNA e obesidade mórbida.

Literatura recomendada

- Adams et al. Nonalcoholic fatty liver disease increases risk of death among patients with diabetes: a community-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1567-73.
- Afzali A et al. Excellent posttransplant survival for patients with nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Liver Transpl* 2012;18:29-37.
- Aithal GP, Thomas JA, Kaye PV, Lawson A, Ryder SD, Spendlove I, et al. Randomized, placebo-controlled trial of pioglitazone in nondiabetic subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1176-84.
- Alvares-da-Silva MR et al. Conventional and novel cardiovascular risk factors in liver transplant recipients. *J Hepatol* 2012;56:S75-6.
- Ascha MS, Ianouach IA, Cafez R, et al. The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010 Jun;51(6):1972-8.
- Barr J et al. Obesity-dependent metabolic signatures associated with non-alcoholic fatty liver disease progression. *J Proteome Res* 2012;11(4):2531-2.
- Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006;355(22):2297-307.
- Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2467-74.
- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology* 2011;53:810-20.
- Cave M, Falkner KC, Ray M, Joshi-Barve S, Brock G, Khan R, et al. Toxicant-associated steatohepatitis in vinyl chloride workers. *Hepatology*. 2010;51(2):474-81.
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012;55:2005-23.
- Charlton et al. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology* 2011;141:1249-53.
- Cotrim HP, Andrade ZA, Parana R, Portugal M, Lyra LG, Freitas LA. Nonalcoholic steatohepatitis: a toxic liver disease in industrial workers. *Liver*. 1999;19(4):299-304.
- Cotrim HP, Carvalho F, Siqueira AC, Lordelo M, Rocha R, De Freitas LA. Nonalcoholic fatty liver and insulin resistance among petrochemical workers. *JAMA*. 2005;294(13):1618-20.
- Cotrim HP, De Freitas LA, Freitas C, Braga L, Sousa R, Carvalho F, et al. Clinical and histopathological features of NASH in workers exposed to chemicals with or without associated metabolic conditions.
- Cotrim HP, Parise ER, Oliveira CP, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Ann Hepatol* 2011 Jan-Mar;10(1):33.
- de Andrade AR, Cotrim HP, Alves E, Soares D, Rocha R, Almeida A, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in severely obese individuals: the influence of bariatric surgery. *Ann Hepatol*. 2008;7(4):364-8.
- Domanski et al. Cardiovascular disease and nonalcoholic fatty liver disease: does histology severity matter? *J Clin Gastroenterol* 2012;46:427-30.
- Donadon V, Balbi M, Mas MD, Casarin P, Zanette G. Metformin and reduced risk of hepatocellular carcinoma in diabetic patients with chronic liver disease. *Liver Int*. 2010;30(5):750-8.
- Dufour JF, Oneta CM, Govers JJ, Bihl F, Cerny A, Cereda JM, Zala JF, et al. Randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid with vitamin e in nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1537-43.
- Dumortier J et al. Non-alcoholic fatty liver disease in liver transplant recipients: another story of "seed and soil". *Am J Gastroenterol* 2010;105:613-20.
- Hassan MM, Curley SA, Li D, Kaseb A, Davila M, Abdalla EK, et al. Association of diabetes duration and diabetes treatment with the risk of hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 2010 Apr 15;116(8):1938-46.
- Haukeland JW, Konopski Z, Eggesbø HB, von Volkman HL, Raschpichler G, Bjørø K, Haaland T, et al. Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(7):853-60.
- Henao-Mejia J et al. Inflammation-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature* 2012;482:179-85.
- Hsiao TJ, Wang JD, Yang PM, Yang PC, Cheng TJ. Liver fibrosis in asymptomatic polyvinyl chloride workers. *J Occup Environ Med*. 2004;46(9):962-6.
- Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313-21.
- Krauczyk M, Bomfrate L, Portincasa P. No alcoholic fatty liver disease. *Best Practice. Research Clinical Gastroenterol* 2010;24:695-708.
- Laish et al. Metabolic syndrome in liver transplant recipients: prevalence, risk factors, and association with cardiovascular events. *Liver Transpl* 2011;17:15-22.
- Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, Gossard A, Gores GJ, Ludwig J, Rakela J, et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology* 1996;23:1464-7.
- Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Mollenst J, Murray KF, Rosenthal P, et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA*. 2011 Apr 27;305(16):1659-68.
- Leite NC, Salles GF, Araujo AL, 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.
- Leite NC, Villela-Nogueira CA, Pannain VL, Bottino AC, Rezende GF, Cardoso CR, et al. Histopathological stages of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes: prevalences and correlated factors. *Liver Int*. 2011;31(5):700-6.
- Leuschner UF, Lindenthal B, Herrmann G, Arnold JC, Rossle M, Cordes HJ, Zeuzem S, et al. High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology* 2010;52:472-9.
- Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, Lypm JF, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology* 2004;39:770-8.
- Liver Int*. 2004;24(2):131-5.
- Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol*. 2006;45(4):600-6.
- Maroni M, Fanetti AC. Liver function assessment in workers exposed to vinyl chloride. *Int Arch Occup Environ Health*. 2006;79(1):57-65.
- Maroni M, Mocci F, Visentin S, Preti G, Fanetti AC. Periportal fibrosis and other liver ultrasonography findings in vinyl chloride workers. *Occup Environ Med*. 2003;60(1):60-5.
- Mathurin P, Hollebecque A, Amalsteen L, Buob D, Leteurtre E, Caiazzo R, et al. Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease. *Gastroenterology*. 2009;137(2):532-40.
- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999;116:1413-9.
- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999 Jun;116(6):1413-9.
- Michailova A, Kuneva T, Popov T. A comparative assessment of liver function in workers in the petroleum industry. *Int Arch Occup Environ Health*. 1998;71 Suppl:S46-9.
- Musso G et al. Cholesterol-lowering therapy for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: an update. *Current Opinion in Lipidology* 2011;22:489-96.
- Nadeau KJ, Ehlers LB, Zeitler PS, Love-Osborne K. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease with metformin versus lifestyle intervention in insulin-resistant adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2009;10(1):5-13.
- Nar A, Gedik O. The effect of metformin on leptin in obese patients with type 2 diabetes mellitus and nonalcoholic fatty liver disease. *Acta Diabetol*. 2009;46(2):113-8.
- Newsome PN et al. Guidelines for liver transplantation for patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2012;61:484-500.
- Pérez CA, Bosia JD, Cantore MS, Chiera A, Cocozzella DR, Adrover RE, et al. [Liver damage in workers exposed to hydrocarbons]. *Gastroenterol Hepatol*. 2006;29(6):334-7.
- Ratziu V, de Ledinghen V, Oberti F, Mathurin P, Wartelle-Bladou C, Renou C, Sogni P, et al. A randomized controlled trial of high-dose ursodeoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2011;54:1011-9.
- Saad AA, el-Sewedy SM, Bader GA, Mousa SM, Mahdy MM. Biochemical effects of vinyl chloride monomer on the liver of occupationally exposed workers. *East Mediterr Health J*. 2000;6(5-6):979-86.
- Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010;362(18):1675-85.
- Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, Sargeant C, Luketic VA, Sterling RK, et al. A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglitazone for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(12):1107-15.
- Schwingel PA, Cotrim HP, Salles BR, Almeida CE, dos Santos CR Jr, Nachev B, et al. Anabolic-androgenic steroids: a possible new risk factor of toxicant-associated fatty liver disease. *Liver Int*. 2011;31(3):348-53.
- Singal A et al. Antioxidants as therapeutic agents for liver disease. *Liver International* 2011;31(10):1432-48.
- Tilg H & Kaser A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *J Clin Investig* 2011;121:2126-32.
- Tordjman J et al. Structural and inflammatory heterogeneity in subcutaneous adipose tissue: relation with liver histopathology in morbid obesity. *J Hepatol* 2012;56:1152-8.
- Torres DM, Williams CD, Harrison SA. Features, Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2012 Mar 22 (Epub ahead of print).
- Uygun A, Kadayifci A, Isik AT, Ozgurtaş T, Deveci S, Tuzum A, et al. Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;19(5):537-44.
- William Nseir et al. Lipid lowering agents in NAFLD and Steatohepatitis: human studies. *Digestive Diseases and Sciences* 2012 (15 march 2012 Epub ahead of print).
- Williams CD, Stengel J, Asike MI, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology* 2011 Jan;140(1):124-31.
- Younossi ZM, Stepanova M, Rafiq N, Makhlof H, Younossi Z, Agrawal R, Goodman Z. Pathologic criteria for nonalcoholic steatohepatitis: interprotocol agreement and ability to predict liver-related mortality. *Hepatology* 2011;53:1874-82.