

Universidade Federal de Minas Gerais
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

GEYZA NOGUEIRA DE ALMEIDA ARMILIATO

**Avaliação do consumo de bebidas industrializadas em pacientes com doença hepática
gordurosa não alcoólica**

Belo Horizonte - MG
2015

GEYZA NOGUEIRA DE ALMEIDA ARMILIATO

Avaliação do consumo de bebidas industrializadas em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto, da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde do Adulto.

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Alves Couto

Co-orientadora: Profa. Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Belo Horizonte

2015

Armiliato, Geyza Nogueira de Almeida.

AR729a Avaliação do consumo de bebidas industrializadas em pacientes com Doença Hepática Gordurosa não Alcoólica [recurso eletrônico]. / Geyza Nogueira de Almeida Armiliato. -- Belo Horizonte: 2015.

88f.: il.

Formato: PDF.

Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Cláudia Alves Couto.

Coorientador (a): Teresa Cristina de Abreu Ferrari.

Área de concentração: Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.

Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Hepatopatia Gordurosa não Alcoólica. 2. Hepatopatias. 3. Cirrose Hepática Alcoólica. 4. Xarope de Milho Rico em Frutose. 5. Dissertação Acadêmica. I. Couto, Cláudia Alves. II. Ferrari, Teresa Cristina de Abreu. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título

.

NLM: WI 710

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO
ADULTO



ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA GEYZA NOGUEIRA DE ALMEIDA ARMILIATO

Realizou-se, no dia 08 de julho de 2015, às 14:00 horas, Sala 062, andar térreo da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada **AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE BEBIDAS INDUSTRIALIZADAS EM PACIENTES COM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**, apresentada por **GEYZA NOGUEIRA DE ALMEIDA ARMILIATO**, número de registro 2012733616, graduada no curso de NUTRIÇÃO, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, à seguinte Comissão Examinadora: Prof^ª. Claudia Alves Couto - Orientadora (UFMG), Prof^ª. Teresa Cristina de Abreu Ferrari - Coorientadora (UFMG), Prof^ª. Maria de Lourdes de Abreu Ferrari (UFMG), Prof^ª. Luciana Costa Faria (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

☒ Aprovada

☐ Reprovada

Finalizados os trabalhos, foi lavrada a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 08 de julho de 2015.

Prof^ª. Claudia Alves Couto (Doutora)

Prof^ª. Teresa Cristina de Abreu Ferrari (Doutora)

Prof^ª. Maria de Lourdes de Abreu Ferrari (Doutora)

Prof^ª. Luciana Costa Faria (Doutora)

Dedico este trabalho à minha família, em especial minha mãe, pelo constante apoio e exemplo para minha vida.

Agradecimentos

Agradeço a todos que de alguma forma tornaram possível a realização deste trabalho:

À minha orientadora, Profa. Cláudia, pelos ensinamentos na área de hepatologia, por toda paciência em esclarecer minhas dúvidas e sugestões no trabalho, além de ter confiado na minha capacidade. Serei sempre grata.

À Profa. Teresa, por me fazer ver a pesquisa científica de modo diferente, e pelas boas sugestões.

À Profa. Maria Arlene Fausto, por me mostrar a vida acadêmica e despertar minha paixão pela área, e por sempre me fazer estudar muito a estatística.

À Profa. Paula Vidigal, por revisar todas as lâminas de biópsias dos nossos pacientes.

Ao estatístico do CPG, Fernando, pela ajuda e esclarecimento de dúvidas na estatística do trabalho.

Às secretárias do ambulatório do Instituto Alfa de Gastroenterologia: Fernanda, Paula e Adriana, pela disposição e boa vontade em ajudar.

À amiga Annanda, por sempre ouvir minhas dúvidas e tentar ajudar. E também pelo equilíbrio emocional em momentos de grandes problemas.

Às amigas de ambulatório: Sílvia, Jeniffer, Letícia e Érika e o médico Quelson, pela ajuda no desenvolvimento da pesquisa.

Aos acadêmicos: Cristiano, Ana Luiza, Raíssa, Lucas, Kássio e Tábata. Obrigada

Aos pacientes, pela confiança e disponibilidade em participar da pesquisa,

À minha família: minha mãe Anaí, pelo constante apoio e confiança em minha capacidade e ser meu pilar de sustentação; meu irmão Vinícius, por apoiar minhas decisões; minha avó e tia pelo apoio e meu pai Jorge. Muito obrigada!

**“Algo só é impossível até que alguém duvide e acabe provando o contrário.”
(Albert Einstein)**

RESUMO

Introdução: A doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) é condição clínico-patológica caracterizada por acúmulo de lipídios no fígado de pacientes sem histórico de consumo de bebidas alcoólicas. Seu espectro varia de esteatose simples a esteatohepatite (ENA) e cirrose que podem associar-se ao carcinoma hepatocelular. Recentemente, o consumo excessivo de xarope de milho com alto teor de frutose tem sido associado ao desenvolvimento da DHGNA. Neste estudo investigou-se o consumo de bebidas industrializadas ricas em frutose em pacientes com DHGNA e a sua relação com fatores de risco para DHGNA. **Metodologia:** Foram avaliados pacientes com diagnóstico histológico de DHGNA submetidos à avaliação clínica para descartar outras hepatopatias; exames laboratoriais hepáticos e metabólicos; avaliação de comorbidades e síndrome metabólica (SM); avaliação antropométrica e circunferência da cintura; avaliação nutricional e da composição corporal por bioimpedância elétrica e três recordatórios para avaliação dos hábitos alimentares e consumo de bebidas industrializadas (quantidades de copos ingeridos por semana). Todos os pacientes tiveram o *NAFLD score* calculado. Fibrose foi avaliada pela histologia hepática (Metavir) e/ou pelo *NAFLD score*, considerando-se o valor mais alterado encontrado quando se tratava de biópsia realizada há mais de um ano. **Resultados:** Foram incluídos 51 pacientes com idade média de $54,4 \pm 12,3$ anos, 80,4% do sexo feminino, com média de consumo de bebidas industrializadas de $5,8 \pm 5,5$ copos por semana. Os pacientes foram separados em dois grupos segundo o consumo das bebidas: consumo mínimo a moderado (<7 copos semanais, grupo A) e consumo diário (≥ 7 copos semanais, grupo B). O consumo diário de bebidas industrializadas ocorreu em 39,2% da população. Obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) foi associada ao consumo diário de bebidas industrializadas (18/31 vs. 17/20; $p=0,04$). Não foi encontrada diferença significativa em relação ao consumo alimentar de macronutrientes mensurado pelo recordatório entre os grupos. Não houve diferença em relação ao consumo de bebidas industrializadas e ocorrência de diabetes mellitus/resistência à insulina.. O grupo B apresentou maior frequência de hipertrigliceridemia (15/20 vs. 15/31; $p=0,05$) e maior valor sérico médio de triglicerídeos ($155,4 \pm 62,1$ vs. $216,7 \pm 118,2$; $p=0,03$). A maioria dos pacientes (78,4%; 40/51) apresentava ENA à histologia. Houve tendência à maior frequência de fibrose no grupo A (24/31 vs. 11/20, $p=0,09$). Houve correlação positiva, embora fraca, ($r=0,29$; $p=0,04$) entre número de copos consumidos de bebidas e triglicerídeos. **Conclusão:** O consumo diário de bebidas industrializadas foi confirmado em

39,2% da população com DHGNA. O aumento do consumo de bebidas industrializadas com alto teor de frutose, caracterizado como consumo ≥ 7 copos semanais se correlacionou ao aumento de triglicerídeos séricos em pacientes com DHGNA.

Palavras-chaves: doença hepática gordurosa não alcoólica, esteatohepatite não alcoólica, xarope de milho com alto teor de frutose.

ABSTRACT

Introduction: Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a clinical pathological condition characterized by accumulation of lipids in the liver in patients without history of alcohol consumption. Its spectrum ranges from simple steatosis to cirrhosis and nonalcoholic steatohepatitis (NASH) that may be associated with hepatocellular carcinoma. Recently, the excessive consumption of high fructose corn syrup has been linked to development of NAFLD by induction of insulin resistance, postprandial hypertriglyceridemia and lipid accumulation in the liver, especially in individuals with overweight.

Methods: Patients with histological diagnosis of NAFLD were evaluated for other causes of liver diseases and features of metabolic syndrome. All patients underwent abdominal ultrasound, biochemical tests, dietary evaluations and anthropometric evaluations. Body composition was evaluated by bioelectrical impedance. Three reminders to assess eating habits and consumption of industrialized beverages (amounts of cups consumed per week) were used. Fibrosis was evaluated by liver histology (Metavir) and the NAFLD score in all patients, considering the most modified value found when it came to biopsy performed for more than one year. Patients were diagnosed with metabolic syndrome according to the criteria of the International Diabetes Federation, according to Harmonisation of MS.

Results: We included 51 patients with a mean age of 54.4 ± 12.3 years, 80.4% female, separated into two groups characterized by the consumption of industrialized beverages: minimum to moderate (group A) and daily consumption (group B). Obesity ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) was associated with daily consumption of industrialized beverages (18/31 vs. 17/20; $p = 0.04$). No statistical differences were found in relation to food intake of macronutrients measured by food questionnaire between groups. There was no difference in relation to the consumption of industrialized beverages and DM / RI (Group A: 24/31 vs. Group B: 14/20). Group B had a higher frequency of hypertriglyceridemia (15/20 vs. 15/31; $p = 0.05$) and higher mean serum triglyceride value (155.4 ± 62.1 vs. 216.7 ± 118.2 ; $p = 0.03$). 78.4% (40/51) had diagnosed of NASH by liver histology ($NAS \geq 5$). Frequency of fibrosis was not different ($p = 0.09$) between the groups (24/31 vs. 11/20, $p = 0.09$). There was a significant correlation ($p = 0.04$, $r = 0.29$) between consumption of industrialized beverages and increased triglycerides.

Conclusion: Daily consumption of industrialized beverages occurred in 39.2% of patients with NAFLD. The excessive consumption of high fructose corn syrup in industrialized beverages, characterized as ≥ 7 cups per week, was associated with hypertriglyceridemia in patients with NAFLD.

Keywords: nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, high fructose corn syrup.

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Perfil demográfico e nutricional dos pacientes com DHGNA em relação ao consumo de bebidas industrializadas -----	46
Tabela 2 – Relação entre características histológicas e o consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA -----	47
Tabela 3 – Relação entre estado nutricional, estilo de vida e consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA -----	48
Tabela 4 –Relação entre consumo de carboidratos, lipídios totais, monoinsaturados, poli-insaturados, saturados e o consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA utilizando-se média de três recordatórios 24 horas -----	49
Tabela 5 – Características clínicas em relação ao consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA -----	50
Tabela 6 – Perfil bioquímico sérico em relação ao consumo de bebidas industrializadas de pacientes com DHGNA -----	51
Tabela 7: Análise de correlação entre consumo de bebidas industrializadas (copos por semana) e perfil lipídico sérico-----	53
Tabela 8 – Associação entre consumo de bebidas industrializadas, histologia hepática e fatores da SM (análise multivariada) -----	53

Lista de Abreviaturas

DHGNA – Doença hepática gordurosa não alcoólica

ENA – Esteatohepatite não alcoólica

DM – Diabetes mellitus

SM – Síndrome metabólica

RI – Resistência à insulina

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

GGT – Gama glutamiltranspeptidase

IMC – Índice de massa corporal

HFCS – *High fructose corn syrup* (xarope de milho com alto teor de frutose)

HOMA – *Homeostatic model assessment*

FA – Fosfatase alcalina

CC – Circunferência da cintura

HDL – *High density lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade)

LDL – *Low density lipoprotein* (lipoproteína de baixa densidade)

VLDL – *Very low density lipoprotein* (lipoproteína de muito baixa densidade)

NAFLD score – *Nonalcoholic fatty liver disease score*

SUMÁRIO

1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	15
1.1- Antecedentes Científicos.....	16
1.1.1 – Doença hepática gordurosa não alcoólica.....	16
1.1.2- Bebidas açucaradas industrializadas.....	18
1.1.3 - Referências Bibliográficas.....	26
2-OBJETIVOS.....	29
2.1- Objetivo geral.....	29
2.2- Objetivos específicos.....	29
3-PACIENTES E MÉTODOS.....	30
3.1- Delineamento do estudo.....	30
3.3 - Critérios de inclusão e exclusão.....	30
3.4 - Coleta de dados.....	31
3.4.1 – Avaliação clínico-laboratorial.....	31
3.4.2 – Avaliação histológica.....	33
3.4.3- <i>Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) score</i>	34
3.4.5. – Avaliação do consumo alimentar.....	36
3.5– Análise estatística.....	39
4- ARTIGO 1.....	40
5- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
Anexo A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	85
Anexo B- Protocolo de Atendimento.....	90
Anexo C- Recordatório Alimentar.....	95
Anexo D- Carta de aprovação do Comitê de Ética.....	96

1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma condição clínico-patológica que abrange um espectro de alterações variáveis e pode se manifestar como esteatose simples, caracterizada por acúmulo de lipídios no parênquima hepático ou esteatohepatite não-alcoólica (ENA) caracterizada por lesão dos hepatócitos (balonização), inflamação e fibrose com potencial progressão para cirrose^[1].

A prevalência da DHGNA varia de acordo com o método diagnóstico utilizado, estimando-se que esta ocorra em 6 a 35% da população mundial^[2]. A doença está fortemente associada a obesidade, diabetes mellitus (DM) e síndrome metabólica (SM). Estudos prévios estimam que a DHGNA acometa cerca de 75% dos obesos e a ENA mais de 20% desta população^[3].

O aumento da prevalência da DHGNA nas últimas décadas pode estar associado, ao menos parcialmente, com o aumento do consumo de frutose observada na dieta ocidental^[4]. O carboidrato predominantemente responsável pelo aumento do consumo calórico associado à dieta típica ocidental é a frutose, que é consumido tanto sacarose (50% de frutose) ou xarope de milho com alto teor de frutose (42% ou 55% de frutose). Até o ano 1900, norte-americanos consumiam aproximadamente 15g de frutose por dia (4% do total de calorias), principalmente por meio de frutas e vegetais. Antes da segunda guerra mundial, a ingestão de frutose aumentou para 24g por dia (5% do total de calorias); por volta de 1977, era de 37g por dia (7% do total de calorias); e em 1994, 55g por dia (10% das calorias totais)^[5]. O xarope de milho com alto teor de frutose é um adoçante utilizado amplamente pela indústria por sua capacidade em aumentar a vida de prateleira dos produtos e ser mais barato. Está presente nas bebidas industrializadas em geral.

Dados recentes de estudos nos quais se avaliou a associação entre o consumo excessivo desse adoçante e o desenvolvimento da DHGNA sugerem que esse consumo aumentado pode induzir resistência a insulina, hipertrigliceridemia pós-prandial e acúmulo de lipídios no fígado, principalmente em indivíduos com excesso de peso^[6].

1.1- Antecedentes Científicos

1.1.1 – Doença hepática gordurosa não alcoólica

A DHGNA é uma condição clínico-patológica caracterizada por acúmulo de lipídeos no fígado de pacientes sem histórico de consumo de bebidas alcoólicas. Seu espectro varia de esteatose simples a ENA e cirrose que podem associar-se ao carcinoma hepatocelular. A esteatose simples é definida histologicamente como acúmulo de gordura nos hepatócitos superior a 5% e raramente evolui para doença hepática mais avançada. ENA é caracterizada por dano hepatocelular associado a atividade necro-inflamatória com ou sem fibrose e balonização, com potencial para progressão para cirrose, insuficiência hepática terminal e carcinoma hepatocelular^[7].

DHGNA está fortemente associada a obesidade, resistência a insulina (RI) e SM. No que se refere à etiopatogenia da ENA, inicialmente foi postulado a teoria de “dois *hits*”: o primeiro *hit* está relacionado à esteatose hepática que desregula o metabolismo dos ácidos graxos, sensibilizando o fígado para a inflamação induzida pelo segundo “*hit*” que promove estresse oxidativo com consequente necroinflamação dos hepatócitos, balonização e fibrose. Não é totalmente compreendido o motivo pelo qual alguns pacientes desenvolvem apenas esteatose enquanto outros desenvolvem ENA e evoluem para formas mais graves da doença hepática. No entanto, RI parece levar a aumento dos níveis de ácidos graxos livres no fígado, que estão fortemente associados à ENA. A insulina faz com que os ácidos graxos livres sejam esterificados e os triglicerídeos, armazenados no tecido adiposo. Quando se desenvolve RI, os ácidos graxos livres são transportados para outros tecidos, tais como o fígado, levando à inibição da lipólise e aumento da lipogênese. Atualmente, considera-se a teoria de dois *hits* muito simplificada, sendo reconhecida a importância de múltiplos fatores na fisiopatogênese, enfatizando-se o papel das adipocinas e citocinas pró-inflamatórias. Além disso, sabe-se que outros fatores estão ligados à fisiopatogênese e progressão da doença, tais como: alteração da permeabilidade intestinal, endotoxinas, fatores genéticos e ambientais^[1, 8].

A prevalência de DHGNA varia de acordo com a população e os critérios diagnósticos utilizados. Baseando-se o diagnóstico nas enzimas hepáticas estima-se prevalência entre 3 e 23% da população geral^[2, 9]. Estudos que se baseiam em ultrassonografia como critério diagnóstico mostram, em indivíduos saudáveis, prevalências de 25-30% nos Estados Unidos e Itália, e 29% no Japão^[2, 10]. Tratando-se da espectroscopia por ressonância magnética como método diagnóstico, o estudo *Dallas Heart* mostrou que cerca de 30% da população dos Estados Unidos tem aumento no conteúdo de triglicerídeos hepáticos^[11]. A prevalência de ENA é ainda mais difícil de mensurar, visto que o padrão ouro para o seu diagnóstico é a biópsia hepática; estima-se que 2 a 5% da população geral possuem a doença^[2]. Entre os pacientes com DHGNA, 30% dos que possuem esteatose isolada irão progredir para ENA; destes, cerca de 20% progredirão para cirrose, e dos cirróticos, 30-40% terão a forma descompensada da doença evoluindo para o óbito em período de 10 anos^[8, 12].

Cotrim et al^[13] analisaram casuística brasileira de pacientes com DHGNA e encontraram elevação das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamiltanspeptidase (GGT) em 55,8%, 42,2% e 63,1% dos casos, respectivamente. Considerando-se a biópsia hepática, foi observado esteatose isolada em 41,7% dos casos; ENA sem fibrose em 31,1%; e ENA com fibrose em 27% dos casos.

DHGNA está fortemente associada ao DM, obesidade e SM^[14]. Jimba et al^[15] verificaram entre japoneses adultos a ocorrência de DHGNA em 27% dos indivíduos com glicemia de jejum normal, em 43% daqueles com glicemia alterada e em 62% dos diagnosticados diabéticos. Diabetes e índice de massa corpórea (IMC) aumentados (sobrepeso/obesidade) estavam associados com fibrose avançada em pacientes com ENA. ENA ocorre em aproximadamente 3% da população mundial saudável e 19% da população obesa^[1].

A DHGNA pode manifestar-se por meio de elevações das aminotransferases detectadas em exames laboratoriais de rotina. A razão AST/ALT é geralmente inferior a 1. A ultrassonografia abdominal é um instrumento sensível e específico para diagnóstico de esteatose e cirrose, porém de menor valor preditivo para identificação de ENA^[16]. A espectroscopia por ressonância magnética fornece resultados quantitativos sobre o teor do

conteúdo hepático de triglicerídeos^[17]. Porém, a histologia hepática permanece o padrão ouro para se confirmar o diagnóstico e avaliar a gravidade da ENA^[18].

1.1.2- Bebidas açucaradas industrializadas

A frutose é um açúcar altamente lipogênico presente em alimentos e bebidas industrializados. Pode ser encontrada na forma de monossacarídeo ou em conjunto com a glicose formando a sacarose^[19]. Existem três fontes principais de frutose na dieta: a maior proporção corresponde à sacarose (composta por 50% de glicose e 50% de frutose); em segundo lugar, as bebidas industrializadas que contém o xarope de milho com alto teor de frutose (55% frutose e 42% glicose); e em terceiro lugar, a frutose advinda das frutas e mel^[20].

O xarope de milho com alto teor de frutose (*High fructose corn syrup - HFCS*) é feito por uma isomerização enzimática industrial da glicose, sendo composto por glicose e frutose. Em 1967, foi introduzido o uso de *HFCS-42* (42% de frutose) e em 1977, essa porcentagem mudou para 55%. Embora o *HFCS* possa conter até 90% de frutose, a maioria das bebidas industrializadas contém *HFCS-55* (55% de frutose)^[21].

HFCS é utilizado em refrigerantes, sucos industrializados e doces industrializados em geral. As indústrias fabricantes de alimentos preferem seu uso ao da sacarose por se tratar de um edulcorante mais barato e que aumenta a vida de prateleira dos produtos. De 1970 a 1997, o consumo anual per capita de *HFCS* subiu de 0,5 para 62,4Kg; enquanto o consumo de sacarose diminuiu de 102 para 67Kg. Em contrapartida, o consumo da frutose natural, que está presente em frutas frescas e vegetais, é estimado em apenas 15g por dia^[22].

A frutose estimula a lipogênese no fígado. Portanto, a sua ingestão induz perfil endócrino que poderia favorecer o aumento da ingestão de alimentos e ganho de peso, por diminuir os níveis de insulina e leptina (hormônios que inibem a ingestão de alimentos, regulam o balanço energético e adiposidade corporal)^[23].

O metabolismo da frutose apresenta diversas vias metabólicas distintas das da glicose. Primeiramente, a ingestão de frutose causa menor efeito de saciedade em comparação à glicose, devido à menor secreção de insulina e leptina, o que pode ocasionar um aumento na ingestão de alimentos. Além disso, a frutose tem menor capacidade de inibir a grelina, hormônio que estimula o apetite e reduz a sensação de saciedade. A

leptina, por sua vez, promove a redução da ingestão alimentar, está relacionada ao gasto energético, ao metabolismo da glicose e influencia as funções endócrinas do pâncreas. Níveis elevados de leptina reduzem a ingestão alimentar, enquanto níveis baixos estimulam a hiperfagia. Por outro lado, a grelina exerce uma ação oposta à da leptina, induzindo o apetite. Em segundo lugar, após entrar na circulação sanguínea, a maior parte da frutose é transportada para o fígado por meio do transportador GLUT5. Em terceiro lugar, no fígado, a frutose é convertida em intermediários metabólicos, como os fosfatos de triose (diidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato) e em ácido úrico, por meio das enzimas frutoquinase e aldolase B. Quarto, parte do excesso de triose fosfato pode ser utilizado para lipogênese e exportação de *very low density lipoprotein (VLDL)* para os hepatócitos, ocasionando esteatose. O metabolismo da frutose está associado ao aumento da lipogênese, diminuição da oxidação de lipídeos, aumento da produção de radicais livres, aumento da permeabilidade intestinal, supercrescimento bacteriano, e níveis elevados de lipopolissacarídeos^[24, 25].

Apesar de a frutose não aumentar a insulina de forma aguda, com o tempo, aumenta a RI, glicemia de jejum e insulina. Dirlewanger et al.^[26] encontraram que a frutose induz a RI hepática e extra-hepática em seres humanos adultos saudáveis, apesar de o mecanismo de como a RI é induzida não ser conhecido. O alto consumo de frutose claramente aumenta a gordura visceral em adultos saudáveis.

Em 1970, Mann et al.^[27] demonstraram que a redução de sacarose na dieta resultou em melhora dos níveis de triglicerídeos em homens saudáveis. Esta constatação continua a ser apoiada por numerosos estudos que demonstram aumento de triglicerídeos levando em consideração o consumo de frutose. Em diversos estudos em que se administra frutos, obtêm-se como resultado aumento de triglicerídeos plasmáticos, principalmente no período pós-prandial^[28, 29].

O Quadro 1 apresenta alguns estudos de intervenção mais recentes com suplementação de carboidratos simples e mudanças nos perfis sérico e hepático em pacientes saudáveis.

Quadro 1: Estudos de intervenção em pacientes saudáveis e suplementação de carboidratos

Estudo	Tamanho da Amostra	Variáveis	Resultados
Silbernagel <i>et al.</i> , (2011) ^[30]	20 saudáveis (10 suplementados 150g de frutose/dia e 10 com 150g glicose/dia; 4 semanas	Recordatório alimentar, ressonância magnética, exames bioquímicos	Diminuição da sensibilidade a insulina nos 2 grupos. Triglicerídeos aumentados no grupo frutose. Não houve alterações relativas à gordura hepática, visceral e abdominal subcutânea.
Maersk <i>et al.</i> , (2012) ^[31]	47 indivíduos saudáveis ingerindo 1 litro por dia de uma das seguintes bebidas: Coca-Cola, Coca-Cola Diet, leite ou água - 6 meses	Ressonância magnética, antropometria, exames bioquímicos	Aumento em 32% das concentrações de triglicerídeos e 11% no colesterol, aumento tecido adiposo visceral no grupo Coca-Cola em relação às outras 3 bebidas.
Silbernagel <i>et al.</i> , (2012) ^[32]	20 indivíduos saudáveis suplementando 150g de frutose ou glicose; 4 semanas	Ressonância magnética, exames bioquímicos, recordatório alimentar	Associação independente entre conteúdo de gordura visceral e hepática com a síntese de colesterol em humanos saudáveis. A síntese de colesterol parece ser dependente do consumo de frutose/glicose.
Theytaz <i>et al.</i> , (2012) ^[33]	9 voluntários; 3 tipos de dieta: 1) normocalórica; 2) hipercalórica (3g/kg frutose) mais 6,77g de mistura AA essenciais ; 3)	Antropometria, exames bioquímicos, ressonância magnética por espectroscopia	Suplementação de AA essenciais atenua o acúmulo de gordura intra-hepática em resposta a dieta com alto teor de frutose.

	hipercalórica (3g/kg frutose) mais 2,2g placebo (maltodextrina); 6 dias		
--	---	--	--

AA: aminoácidos; AA essenciais: valina, leucina, isoleucina, treonina, lisina

A ingestão de frutose, em paralelo com o aumento da incidência de obesidade e diabetes, parecem ser os principais fatores de risco para o desenvolvimento da DHGNA^[34]. Estudos em humanos sugerem que pacientes com a doença e particularmente aqueles com danos mais graves no fígado (ENA) consomem mais carboidratos e especialmente frutose em sua dieta em comparação com indivíduos saudáveis^[35, 36].

Assy et al. (2008)^[36] avaliaram a associação entre consumo de refrigerantes e presença de gordura hepática diagnosticada por ultrassonografia, em 31 pacientes com DHGNA e 30 controles, que não apresentavam os fatores de risco clássicos para SM (diabetes, obesidade, hipercolesterolemia e hipertensão). O consumo de bebidas industrializadas foi definido como superior a 50g/dia de açúcar adicionado e o consumo alimentar foi medido por meio de dois registros alimentares de sete dias (um ao início do estudo e outro duas semanas após os exames). Os pacientes com DHGNA apresentaram níveis significativamente maiores de AST, GGT, glicose, insulina de jejum e *homeostatic model assessment (HOMA-IR)* em comparação aos controles. Além disso, houve consumo significativamente maior de refrigerantes e sucos industrializados no grupo de pacientes com DHGNA em comparação aos controles.

Ouyang et al. (2008)^[35] investigaram a hipótese de associação do consumo aumentado de frutose ao desenvolvimento da DHGNA. Foram avaliados 49 pacientes diagnosticados com a doença por meio de biópsia hepática, sem cirrose (critério de Brunt et al. [37]) e 24 controles saudáveis, pareados por sexo, idade e IMC. A análise do consumo de frutose foi estimada por intermédio de questionário sobre frequência de consumo semanal e quantidade de porções de bebidas industrializadas ingeridas. O consumo entre os pacientes com DHGNA foi significativamente maior em comparação aos controles. Além disso, foram mensurados os níveis de frutoquinase (enzima do metabolismo da frutose), ácido graxo sintetase (catalisa síntese de ácidos graxos) e xantina desidrogenase/oxidase (gera espécies reativas de oxigênio e cataboliza purinas). A

expressão das enzimas frutoquinase e ácido graxo sintetase estavam significativamente aumentadas na DHGNA em comparação às amostras de controles sem esteatose. Em conclusão, aventou-se a possibilidade do consumo excessivo de frutose estar relacionado à patogênese da DHGNA.

Volynets et al. (2012)^[38] investigaram o consumo alimentar por meio de questionário de frequência alimentar e sua relação com o desenvolvimento de DHGNA. Foram estudados 20 pacientes e 10 controles saudáveis. O diagnóstico de DHGNA foi realizado por meio da ultrassonografia e parâmetros bioquímicos, sendo que três pacientes foram diagnosticados com ENA pela biópsia hepática. O consumo de sacarose, frutose e glicose foi significativamente superior entre os pacientes em comparação aos controles. Além disso, o consumo de alimentos que contem altas concentrações de açúcares, como refrigerantes, sucos industrializados e doces foi significativamente maior também nos pacientes com DHGNA.

Lecoultre et al. (2013),^[39] pesquisaram a relação entre gordura intra hepática e RI e superalimentação com glicose, frutose ou gordura saturada em 55 indivíduos saudáveis do sexo masculino e sem histórico familiar de DM. O estudo foi dividido em duas fases: inicialmente os indivíduos receberam dieta balanceada para manutenção de peso durante seis a sete dias; após isto, foram constituídos cinco grupos, todos recebendo a mesma dieta balanceada acrescida de uma das suplementações: sete pacientes receberam 1,5g de frutose/kg/dia; 17 receberam 3g de frutose/kg/dia; 10 receberam 4g de frutose/kg/dia; 11 receberam 3g de glicose/kg/dia e 10 indivíduos receberam 30% da energia total consumida em gordura saturada. O total de 20% da frutose e glicose foi oferecido em forma de bebidas durante as refeições. Após o período do estudo, todos foram submetidos à ressonância magnética, perfil sérico de glicose e insulina. A concentração de lipídios hepatocelulares permaneceu inalterada após 1,5g de frutose, porém houve aumento significativo de quase duas vezes nos grupos que receberam 3g e 4g de frutose. Em relação à dieta hiperlipídica, houve aumento significativo de 90% da concentração de lipídios hepatocelulares e de 60% com a dieta acrescida de glicose (3g). A sensibilidade à insulina diminuiu nos grupos que receberam 3g e 4g de frutose e a produção hepática de glicose aumentou significativamente naqueles que receberam frutose 4g.

Abid et al., (2009)^[40] avaliaram associação entre consumo de bebidas industrializadas e esteatose hepática em pacientes com e sem SM. Foram avaliados 90

pacientes em três grupos pareados por idade e sexo; grupo 1: 31 indivíduos com DHGNA e SM; grupo 2: 29 indivíduos com DHGNA e sem SM; e grupo 3: constituído de 30 indivíduos saudáveis. O método para detecção de lipídios hepáticos foi a ultrassonografia. Foi realizado registro alimentar de sete dias no início e final do estudo e após seis meses. O consumo excessivo de bebidas industrializadas foi definido como superior a 50g/dia (aproximadamente, 12 copos de bebidas/dia). O estudo mostrou que pacientes com DHGNA consumiam significativamente mais bebidas industrializadas em comparação aos controles saudáveis (80% vs. 17%). Além disso, foi demonstrado pela regressão logística que o consumo de bebidas industrializadas foi preditor de esteatose hepática (OR: 2; $p < 0,04$), independentemente da presença de SM.

Abdelmalek et al. (2010)[6] investigaram a relação entre o consumo de frutose e a gravidade da Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA). O estudo incluiu 427 pacientes com diagnóstico de esteato-hepatite não alcoólica (ENA) confirmado por biópsia. O consumo de frutose foi avaliado por meio de um questionário validado sobre hábitos alimentares do ano anterior ao estudo, que quantificou a frequência semanal e o número de porções ingeridas de bebidas industrializadas. O tamanho da porção foi estabelecido em 355 mL, equivalente a uma lata padrão de refrigerante. Os resultados mostraram um aumento significativo no risco de desenvolvimento de fibrose e inflamação em indivíduos que consumiam bebidas industrializadas diariamente (mais de sete porções por semana), independentemente da idade, sexo, índice de massa corporal (IMC) e ingestão calórica total.

Em contrapartida, em estudo realizado em finlandeses idosos não se encontrou associação entre consumo elevado de frutose e prevalência de DHGNA. Nesse estudo foram investigados 1611 indivíduos nascidos entre os anos de 1943 e 1944 e o diagnóstico foi feito por meio de um algoritmo (*Fatty Liver Index - FLI*) com as variáveis: IMC, circunferência da cintura (CC), triglicerídeos e GGT séricos; além disso, também foi calculado o *Nonalcoholic Fatty Liver Disease Score (NAFLD score)*. Todos responderam ao questionário de frequência alimentar relatando os hábitos alimentares referentes aos últimos 12 meses. Em 44% da amostra foi diagnosticada DHGNA pelo *FLI* e em 46% pelo *NAFLD score*, sendo que não foi encontrada associação entre consumo e prevalência da doença pelo método diagnóstico *FLI* [41].

O Quadro 2 apresenta os principais estudos nos quais se avaliou o consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA.

Quadro 2: Principais estudos avaliando consumo de xarope de milho com alto teor de frutose em paciente com DHGNA

Estudo	Tamanho da Amostra	Variáveis	Resultados
Kanerva <i>et al.</i> (2014)	1661; 663 diagnosticados com esteatose hepática pelo algoritmo <i>IGFe</i> 511 pelo <i>NAFLD Score</i>	Algoritmo para definição de DHGNA, questionário de frequência alimentar, antropometria, fatores da SM	Consumo maior de frutose negativamente associado à DHGNA: OR=0,68; IC 0,47-0,97; p<0,05.
Volynets <i>et al.</i> (2012)	20 DHGNA (3 ENA) vs. 10 controles saudáveis	Questionário de frequência alimentar, ultrassonografia, parâmetros bioquímicos	Grupo DHGNA: consumo maior (p<0,05) de energia, proteínas, carboidratos, sacarose, frutose e glicose.
Abdelmalik <i>et al.</i> (2010)	427 ENA comprovados por biópsia hepática	Questionário de frequência alimentar, biópsia hepática, exames bioquímicos	Grupo consumo diário de bebidas: maiores níveis de triglicerídeos, glicemia de jejum, consumo de calorias, proteínas, carboidratos e lipídios; menores valores de <i>high density lipoprotein cholesterol</i> (colesterol HDL) em comparação grupo consumo moderado. Modelo final mostrou consumo diário associado a diminuição no grau de esteatose (OR=0,4, IC: 0,4-0,9; p =0,02) e aumento no grau de fibrose (OR=2,6, IC1,4-5; p=0,004
Abid <i>et al.</i> (2009)	31 DHGNA com fatores de risco SM (DM, obesidade, hipertrigliceridemia), 29 DHGNA sem os	Recordatório alimentar, ultrassonografia, exames bioquímicos	Grupo DHGNA com SM: maiores valores (p<0,05) de <i>HOMA</i> e triglicerídeos em comparação a controles

	fatores de risco SM e 30 controles		e DHGNA sem SM. Forte associação entre consumo de bebidas e gordura hepática (OR=2; IC 1-5; p=0,03)
Ouyang <i>et al.</i> (2008)	49 DHGNA e 24 controles	Consumo xarope de milho, biópsia hepática, exames bioquímicos, enzimas frutoquinase e ácido graxo sintase	Grupo DHGNA: maior consumo <i>HFCS</i> , maiores valores de: triglicerídeos, colesterol e ácido úrico séricos, aumento da expressão das enzimas frutoquinase e ácido graxo sintase
Assy <i>et al.</i> (2008)	31 DHGNA sem fatores de risco da doença (DM, obesidade, dislipidemia, hipertensão) e 30 controles	Recordatório alimentar, ultrassonografia	Grupo DHGNA: maior consumo de bebidas industrializadas, refrigerantes e sucos. Correlação entre consumo das bebidas e gordura hepática (r=0,63; p<0,01)
Toshimitsu <i>et al.</i> (2007)	28 ENAe 18 esteatose simples	Recordatório alimentar, biópsia hepática	Grupo ENA: maior consumo de carboidratos (entre as faixas etárias 20-39 e 40-59)
Thuy <i>et al.</i> (2008)	12 DHGNA sem DM e 6 controles saudáveis	Dieta, PAI-1, endotoxina, biópsia hepática	Grupo DHGNA: maior consumo de frutose, endotoxinas e PAI-1. Expressão hepática de RNAm de PAI-1(dano hepático) correlacionou-se com a ingestão dietética de carboidratos (r = 0,67; p <0,01), frutose (r = 0,58; p <0,01), glicose (r = 0,58; p <0,01) e sacarose (r = 0,70 ; p <0,01)

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; SM: síndrome metabólica; OR: odds ratio; ENA: esteatohepatite não alcoólica; HDL: high density lipoprotein; IC: intervalo de confiança; DM: diabetes mellitus; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio-1.

Do exposto, conclui-se pela necessidade de estudos adicionais para se esclarecer o papel da frutose na DHGNA. Foram poucos os estudos nos quais se investigou a associação e o efeito da frutose nos marcadores de gravidade da DHGNA^[42]. Neste contexto, se insere o presente estudo cujo objetivo foi investigar a relação entre o consumo do *HFSC* presente em bebidas industrializadas, fatores de risco para DHGNA e fatores metabólicos associados à doença.

1.1.3 - Referências Bibliográficas

1. Corrado, R.L., D.M. Torres, and S.A. Harrison, *Review of treatment options for nonalcoholic fatty liver disease*. Med Clin North Am, 2014. **98**(1): p. 55-72.
2. Vernon, G., A. Baranova, and Z.M. Younossi, *Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults*. Aliment Pharmacol Ther, 2011. **34**(3): p. 274-85.
3. Lazo, M. and J.M. Clark, *The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective*. Semin Liver Dis, 2008. **28**(4): p. 339-50.
4. Lim, J.S., et al., *The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010. **7**(5): p. 251-64.
5. Vos, M.B., et al., *Dietary Fructose Consumption Among US Children and Adults-The Third National Health and Nutrition Examination Survey*. Medscape Journal of Medicine, 2008. **10**(7).
6. Abdelmalek, M.F., et al., *Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2010. **51**(6): p. 1961-71.
7. Yilmaz, Y. and Z.M. Younossi, *Obesity-Associated Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. Clinics in Liver Disease, 2014. **18**(1): p. 19-31.
8. Levene, A.P. and R.D. Goldin, *The epidemiology, pathogenesis and histopathology of fatty liver disease*. Histopathology, 2012. **61**(2): p. 141-52.
9. Chalasani, N., 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**(6): p. 2005-23.
10. Bedogni, G., et al., *Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study*. Hepatology, 2005. **42**(1): p. 44-52.
11. Browning, J.D., et al., *Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity*. Hepatology, 2004. **40**(6): p. 1387-95.
12. Bhala, N.J., R.I.K.; Bugianesi, E. , *Epidemiology and Natural History of Patients with NAFLD*. Current Pharmaceutical Design, 2013. **9**(29): p. 5169-5176.
13. Cotrim, P.H., et al., *Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile*. Annals of Hepatology, 2011. **10**(1): p. 33-37.

14. Corey, K.E. and L.M. Kaplan, *Obesity and liver disease: the epidemic of the twenty-first century*. Clin Liver Dis, 2014. **18**(1): p. 1-18.
15. Jimba, S., et al., *Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults*. Diabetic Medicine, 2005. **22**(9): p. 1141-1145.
16. Aubé, C., et al., *Ultrasonographic diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis*. Journal of Hepatology, 1999. **30**(3): p. 472-478.
17. Szczepaniak, L.S., et al., *Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005. **288**(2): p. E462-8.
18. Krawczyk, M., L. Bonfrate, and P. Portincasa, *Nonalcoholic fatty liver disease*. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2010. **24**(5): p. 695-708.
19. Vos, M.B. and J.E. Lavine, *Dietary fructose in nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2013. **57**(6): p. 2525-31.
20. Tappy, L. and K.A. Le, *Does fructose consumption contribute to non-alcoholic fatty liver disease?* Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2012. **36**(6): p. 554-60.
21. Ferder, L., M.D. Ferder, and F. Inserra, *The role of high-fructose corn syrup in metabolic syndrome and hypertension*. Curr Hypertens Rep, 2010. **12**(2): p. 105-12.
22. Gaby, A.R., *Adverse effects of dietary fructose*. Alternative Medicine Review, 2005. **10**(4): p. 294-306.
23. Basciano, H., L. Federico, and K. Adeli, *Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia*. Nutr Metab (Lond), 2005. **2**(1): p. 5.
24. Barrera, F. and J. George, *The role of diet and nutritional intervention for the management of patients with NAFLD*. Clin Liver Dis, 2014. **18**(1): p. 91-112.
25. Barreiros, R.C.B., G.; Trindade, C.E.P., *Fructose in humans: metabolic effects, clinical utilization, and associated inherent errors*. Revista de Nutrição, 2005. **18**(3): p. 377-389.
26. Dirlwanger M, S.P., Jequier E, Tappy L., *Effects of fructose on hepatic glucose metabolism humans*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000. **279**: p. 907-11.
27. Mann JI, H.D., Truswell AS, Manning E. , *Effects on serum-lipids in normal men of reducing dietary sucrose or starch for five months*. Lancet, 1970. **1**: p. 870-2.
28. Stanhope, K.L., et al., *Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans*. J Clin Invest, 2009. **119**(5): p. 1322-34.
29. Bantle, J.P., Raatz, S.K., Thomas, W., Georgopoulos A., *Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects*. Am J Clin Nutr, 2000. **72**(5): p. 1128-34.
30. Silbernagel, G., et al., *Effects of 4-week very-high-fructose/glucose diets on insulin sensitivity, visceral fat and intrahepatic lipids: an exploratory trial*. Br J Nutr, 2011. **106**(1): p. 79-86.
31. Maersk, M., et al., *Sucrose-sweetened beverages increase fat storage in the liver, muscle, and visceral fat depot: a 6-mo randomized intervention study*. Am J Clin Nutr, 2012. **95**(2): p. 283-9.
32. Silbernagel, G., et al., *Cholesterol synthesis is associated with hepatic lipid content and dependent on fructose/glucose intake in healthy humans*. Exp Diabetes Res, 2012. **2012**: p. 361863.
33. Theytaz, F., et al., *Effects of supplementation with essential amino acids on intrahepatic lipid concentrations during fructose overfeeding in humans*. Am J Clin Nutr, 2012. **96**(5): p. 1008-16.

34. Spruss, A. and I. Bergheim, *Dietary fructose and intestinal barrier: potential risk factor in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease*. J Nutr Biochem, 2009. **20**(9): p. 657-62.
35. Ouyang, X., et al., *Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease*. J Hepatol, 2008. **48**(6): p. 993-9.
36. Assy, N., et al., *Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors*. Canadian Journal of Gastroenterology, 2008. **22**(10).
37. Brunt, E.M.J., C.G.; Di Bisceglie, A.M.; Neuschwander-Tetri, B.A.; Bacon, B.R., *Nonalcoholic Steatohepatitis - A Proposal for grading and staging the histological lesions*. The American Journal of Gastroenterology, 1999. **94**(9): p. 2467-74.
38. Volynets, V., et al., *Nutrition, intestinal permeability, and blood ethanol levels are altered in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)*. Dig Dis Sci, 2012. **57**(7): p. 1932-41.
39. Lecoultre, V., et al., *Effects of fructose and glucose overfeeding on hepatic insulin sensitivity and intrahepatic lipids in healthy humans*. Obesity (Silver Spring), 2013. **21**(4): p. 782-5.
40. Abid, A., et al., *Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome*. J Hepatol, 2009. **51**(5): p. 918-24.
41. Kanerva, N., et al., *Higher fructose intake is inversely associated with risk of nonalcoholic fatty liver disease in older Finnish adults*. Am J Clin Nutr, 2014. **100**(4): p. 1133-8.
42. Ha, V., et al., *Fructose-containing sugars, blood pressure, and cardiometabolic risk: a critical review*. Curr Hypertens Rep, 2013. **15**(4): p. 281-97.

2-OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Descrever o consumo de bebidas industrializadas ricas em frutose em pacientes com DHGNA.

2.2- Objetivos específicos

- Investigar consumo alimentar e de High-Fructose Soft Drinks (*HFSC*) em pacientes com DHGNA;
- Investigar a relação entre o consumo de frutose e a presença de ENA e fibrose hepática em pacientes com DHGNA;
- Investigar a relação entre o consumo de frutose e os parâmetros clínicos, laboratoriais e nutricionais em pacientes com DHGNA.

3-PACIENTES E MÉTODOS

3.1- Delineamento do estudo

Trata-se de estudo transversal com inclusão prospectiva de pacientes.

3.2-Pacientes

Foram incluídos pacientes com diagnóstico de esteatose hepática não-alcoólica ou ENA, acompanhados no Ambulatório de DHGNA do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG que satisfizeram os critérios de inclusão e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). Os pacientes foram convidados a participar da pesquisa no momento da consulta, ocasião na qual receberam as diversas explicações sobre o projeto e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Este estudo faz parte de projeto mais extenso – “Resposta ao uso de probiótico sobre a permeabilidade intestinal, supercrescimento bacteriano e grau de esteatose na doença hepática gordurosa não-alcoólica” – aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE 01699512.1.0000.5149) (Anexo 2).

3.3 - Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão:

- 1- ENA ou esteatose confirmada por biopsia hepática;
- 2- Ausência de outras hepatopatias associadas, a saber:
 - a. hepatopatia alcoólica – caracterizada pela ingestão >20g/dia de etanol para homens e >10g/dia de etanol para mulheres no período de um ano;
 - b. hepatites B e C – caracterizadas pela presença dos marcadores antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) e anticorpo contra o vírus da hepatite C (anti-HCV), respectivamente;
 - c. outras hepatopatias: autoimunes, doença de Wilson, deficiência de alfa1-antitripsina, hemocromatose hereditária – caracterizadas pelos marcadores específicos;

- 3- Ausência de história prévia de cirurgia de *bypass* gástrico ou *bypass* jejuno ileal;
- 4- Ausência de uso nos últimos seis meses de droga que sabidamente pode causar esteatose hepática;
- 5- Ausência de contato com petroquímicos;
- 6- Idade igual ou superior a 18 anos;
- 7- Concordância em participar do estudo e assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

Critérios de exclusão

- 1- Desistência em participar do estudo;
- 2- Pacientes imunossuprimidos ou criticamente enfermos;

3.4 - Coleta de dados

3.4.1 – Avaliação clínico-laboratorial

Todos os pacientes foram avaliados clinicamente. Foi investigado o histórico de ingestão de bebidas alcoólicas. Posteriormente, foram solicitados exames laboratoriais segundo a rotina do ambulatório de DHGNA: colesterol total e frações, triglicerídeos, glicemia e insulina de jejum, AST, ALT, fosfatase alcalina (FA), GGT, ácido úrico, bilirrubinas total e frações, hormônio estimulante da tireóide (TSH), albumina, creatinina, vitamina D, ferro, ferritina, índice de saturação da transferrina, potássio e hemograma completo. Diante da suspeita de DHGNA, e também segundo protocolo de rotina do Serviço, foram solicitados ainda: HBsAg, anti-HCV, anticorpo contra o antígeno do core do vírus da hepatite B (anti-HBC) dosagem sérica de ceruloplasmina e pesquisa no soro dos seguintes auto-anticorpos: anticorpo anti-nuclear (FAN), anti-músculo liso e anti-mitocôndria.

Todos os exames foram realizados no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG, com o paciente em jejum de no mínimo 12 horas. Os resultados foram comparados aos seus valores de referência e utilizados na descrição das características clínicas e da presença de SM nos pacientes estudados.

SM foi definida segundo os critérios adotados pela Federação Internacional de Diabetes, que segundo a Harmonização da Síndrome Metabólica, é a classificação mais

adequada para a população da América do Sul. Este critério determina como SM a presença de obesidade central (CC ≥ 90 cm para homens e ≥ 80 cm para mulheres) adicionada de pelo menos mais dois dos seguintes fatores: triglicerídeos ≥ 150 mg/dl, HDL < 40 mg/dl para homens ou < 50 mg/dl para mulheres, glicemia de jejum alterada ou ≥ 100 mg/dl, hipertensão arterial (pressão arterial $\geq 130/85$ mmHg)¹ (Quadro 3).

Quadro 3: Componentes da SM, segundo Federação Internacional de Diabetes

Componentes	Níveis
Obesidade abdominal por meio de CC	Homens ≥ 90 cm Mulheres ≥ 80 cm
Triglicerídeos	≥ 150 mg/dl
HDL-colesterol	Homens < 40 mg/dl Mulheres < 50 mg/dl
Pressão arterial	≥ 130 mmHg ou ≥ 85 mmHg
Glicemia de jejum	≥ 100 mg/dl

HDL: lipoproteína de alta densidade

Em pacientes não diabéticos, a resistência à insulina (RI) foi estimada utilizando o índice HOMA, conforme descrito na Fórmula 1. A frequência de RI na população total foi determinada somando-se o número de pacientes diabéticos ou com intolerância à glicose, e os pacientes sem diabetes ou intolerância à glicose, mas com HOMA ≥ 3 .

$$\frac{\text{Insulina sérica } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicose de jejum (mmol/L)}}{22,5}$$

¹Alberti, K.G. M.M., Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., Cleeman, J.I., Donato, K.A., Fruchart, J.C., James, W.P., Loria, C.M., Smith Jr, S.C., *Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity*. Circulation, 2009. **120**(16): p. 1640-5.

3.4.2 – Avaliação histológica

A indicação de biópsia hepática, realizada previamente ao início do estudo, foi individualizada atendendo a critérios clínicos e não com finalidade de pesquisa. As biopsias foram revistas por patologista especialista em doenças do fígado. Foram selecionados e incluídos pacientes com ENA ou esteatose. As alterações histopatológicas foram classificadas de acordo com os critérios de Kleiner e col², a saber: esteatose (0 a 3 pontos); inflamação lobular (0 a 3 pontos); e balonização de hepatócitos (0 a 2 pontos). A soma dos resultados forneceu o escore de atividade da doença (NAS): ≤ 3 , exclusão de ENA; igual a 4 provável ENA; e ≥ 5 : diagnóstico definitivo de ENA. O detalhamento do escore NAS encontra-se descrito no Quadro 4.

Quadro 4: Critério NAS para classificação de DHGNA

Item	Definição	Score
Esteatose	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Inflamação Lobular	nenhum foco	0
	<2 focos/200	1
	2-4 focos/200	2
	>4 focos/200	3
Balonização	Sem balonização	0
	Poucas células apresentando balonização	1
	Muitas células apresentando balonização	2

NAS: escore de atividade da doença; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica.

²Kleiner, D.E., Brunt, E.M., Natta, M.V., Behling, C., Contos, M.J., Cummings, O.W., Ferrell, L.D., Liu, Y.C., Torbenson, M.S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., McCullough, A.J., Sanyal, A., *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2005. **41**(6): p. 1313-21.

A fibrose hepática foi avaliada pela classificação de Metavir³, a saber: F0 = fibrose ausente, F1= fibrose portal sem septos, F2 = fibrose portal com raros septos, F3 = numerosos septos sem cirrose e F4 = cirrose.

Os pacientes foram separados em duas categorias para classificação de gravidade da doença: pacientes sem fibrose à biópsia (F0) e pacientes com algum grau de fibrose à biópsia $\geq$ F1).

3.4.3- *Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) score*

Foi calculado o *NAFLD score* para todos os pacientes. Trata-se de método não invasivo para determinação de fibrose hepática avançada em pacientes com DHGNA. São utilizadas para o cálculo variáveis bioquímicas e clínicas: idade, IMC, DM (classificado como glicemia de jejum $\geq$ 126mg/dL ou tratamento com medicamento antidiabético), valores séricos de AST, ALT, plaquetas e albumina⁴.

Valores superiores a 0,676 identificam presença de fibrose avançada (F3-F4) e valores inferiores a -1,455 identificam ausência de fibrose. Esse escore foi utilizado em associação à avaliação histológica para se avaliar presença de fibrose nos pacientes nos quais o diagnóstico havia sido realizado por biópsias realizadas há mais de um ano; sendo que todos os pacientes do estudo não obtiveram perda de peso significativa entre o período de realização da biópsia e o início do estudo.

Fórmula 2: Cálculo de NAFLD score

$$NAFLD\ score = -1,675 + (0,037 \times idade) + (0,094 \times IMC) + (1,13 \times diabetes)$$

IMC: índice de massa corporal; Kg: quilogramas; m²: metros quadrados; AST: aspartatoaminotransferase; ALT: alanina aminotransferase

³Bedossa, P., Poynard, T., *An Algorithm for the Grading of Activity in Chronic Hepatitis C*. Hepatology, 1996. **24**(2): p. 289-293.

⁴Angulo, P., Hui, J.M., Marchesini, G., Bugianesi, E., George, J., Farrell, G.C., Enders, F., Saksena, S., Burt, A.D., Bida, J.P., Lindor, K., Sanderson, S.O., Lenzi, M., Adams, L.A., Kench, J., Therneau, T.M., Day, C.P., *The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD*. Hepatology, 2007. **45**(4): p. 846-54.

3.4.4 – Avaliação do estado nutricional

A avaliação da composição corporal foi realizada por meio do monitor de composição corporal bioimpedância elétrica (marca *Biodynamics* modelo 450, versão v.5.1 - internacional). Esse aparelho avalia a condutividade elétrica dos diversos tecidos corporais, estimando assim a composição corporal (massa magra, massa gorda, massa intracelular, massa extracelular, relação massa intracelular/massa extracelular, água corporal total, água intracelular, água extracelular, IMC e taxa metabólica basal). É método não-invasivo, que proporciona medida direta da impedância corporal por meio dos seguintes parâmetros: resistência, reatância e ângulo de fase⁵

O peso foi aferido em balança Filizzola®, mecânica, capacidade de 150kg, com divisões de 100g, com o indivíduo em posição ereta, com o mínimo de roupa possível ou com roupas leves, descalço ou com meias. A balança utilizada foi a mesma durante todo o período de coleta de dados. A estatura foi aferida por meio do estadiômetro da própria balança Filizzola®, com o indivíduo em posição ereta, de costas para a balança, olhando para frente, descalço ou com meias. Os dados antropométricos foram cadastrados no aparelho de bioimpedância, bem como idade, sexo e informação sobre a prática de atividade física de cada participante.

Foram colocados dois eletrodos no pé e dois eletrodos na mão direita do paciente, sendo conectados com o monitor por meio de um cabo sensor. O equipamento emite corrente elétrica de baixa intensidade (800µA – 50kHz) que percorre o corpo todo do indivíduo medindo a resistência, reatância e ângulo de fase oferecida pelos vários tecidos do organismo. Esses dados, associados às informações dos indivíduos previamente cadastradas, fornecem os resultados da composição corporal em menos de um minuto. O aparelho de Bioimpedância Modelo 450 tem precisão de 0,1% na resistência, 0,2% na reatância e 0,2% no ângulo de fase.

O método de bioimpedância é muito sensível às variações do estado hídrico do avaliado. Álcool, cafeína e atividade física têm ação diurética, o que pode causar uma leitura de bio-resistência acima do real, superestimando, assim, a gordura corporal. Para a obtenção de boa precisão no teste, todos os pacientes foram orientados quanto aos preparativos para o teste, a saber: evitar consumo de álcool e cafeína (café, chá, chocolate)

⁵Manual de instrução monitor de composição corporal *Byodinamics*. 2007: p. 1-20.

24 horas antes do teste; não realizar atividade física intensa e evitar refeição pesada 4 horas antes do teste; suspender medicação diurética 24 horas antes do teste, exceto no caso de indivíduos hipertensos, que devem estar sob rigoroso controle médico.

O IMC foi calculado para todos os indivíduos. Constitui-se de índice simples definido como peso em quilogramas (kg) dividido pela altura ao quadrado em metros (m). Para a classificação do IMC foi utilizado o critério da Organização Mundial de Saúde, descrito no Quadro 5.

Quadro 5: Classificação de IMC

IMC (kg/m ²)	Classificação
18,5 - 24,9	Eutrofia
25 - 29,9	Sobrepeso
30,0 - 34,9	Obesidade grau I
35 - 39,9	Obesidade grau II
≥40	Obesidade grau III

IMC: índice de massa corporal

A CC de todos os pacientes também foi aferida por meio de técnica padronizada, utilizando-se fita antropométrica, de dois metros, inelástica utilizando-se o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca⁶.

Para o diagnóstico de obesidade central a partir da mensuração da CC, foram utilizados os pontos de corte de ≥90 cm para homens e ≥80 cm para mulheres. Tais valores são os mais utilizados, no momento, para a população da América do Sul, uma vez que não existem, no Brasil, valores específicos de CC para classificação de obesidade abdominal.⁷

3.4.5. – Avaliação do consumo alimentar

⁶World Health Organization, *Waist circumference and waist-hip ratio: Report of a WHO Expert Consultation*. 2008.

⁷Alberti, K.G. M.M., Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., Cleeman, J.I., Donato, K.A., Fruchart, J.C., James, W.P., Loria, C.M., Smith Jr, S.C., *Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity*. *Circulation*, 2009. **120**(16): p. 1640-5.

Foram feitos três recordatórios alimentares em dias diferentes, geralmente dois dias de semana e um final de semana. Trata-se de método de coleta de dados sobre a ingestão de alimentos e bebidas consumidos ao longo das últimas 24 horas, refletindo, portanto, o consumo recente. A quantidade dos alimentos foi relatada em medidas caseiras (ex: xícaras, colheres de sopa, etc.)⁸. As medidas caseiras foram convertidas em gramas e analisadas segundo as tabelas de composição de alimentos brasileiras: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)⁹ e Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)¹⁰.

Foram calculados os seguintes macronutrientes: carboidratos, proteínas, lipídios, gorduras monossaturadas, gorduras poliinsaturadas, gorduras saturadas, fibras.

O Quadro 6 apresenta as recomendações de ingestão de macronutrientes, conforme a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. A necessidade de ingestão foi calculada com base na ingestão calórica total de cada indivíduo e avaliada em relação à porcentagem de cada macronutriente consumido.

Quadro 6: Ingestão recomendada de macronutrientes

Macronutrientes	Ingestão Recomendada
Carboidratos	50 a 60% das calorias totais ingeridas
Gordura total	25-35% das calorias totais ingeridas
Ácidos graxos saturados	<10% das calorias totais
Ácidos graxos monoinsaturados	Até 20% das calorias totais
Ácidos graxos poli-insaturados	Até 10% das calorias totais
Fibras	20 a 30 gramas por dia
Colesterol	<300mg/dia
Proteínas	0,8 a 1,0 grama/kg de peso atual/dia; ou 15% das calorias totais

Fonte: I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica

⁸Holanda, L.B., Filho, A.A.B., *Applied methods in dietary assessment*. Rev Paul Pediatría, 2006. **24**(1): p. 62-70.

⁹Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil*. 2008-2009.

¹⁰*Tabela de Composição de Alimentos - TACO*, Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação- NEPA, 2011: Universidade Estadual de Campinas..

Para se calcular o consumo de frutose (HFCS) foi perguntado a respeito da frequência semanal do consumo de cada bebida (sucos industrializados e refrigerantes) e a quantidade de copos ingeridos (250mL). Para a análise, os pacientes foram divididos em dois grupos: consumo mínimo a moderado (1 a 7 copos por semana) e consumo diário (≥ 7 copos por semana)¹¹.

3.4.6 – Atividade física

Os pacientes foram perguntados a respeito da prática de atividade física: qual atividade era praticada, duração da atividade física e frequência semanal da prática; baseado em uma versão curta para classificação do nível de atividade física IPAQ¹².

Para analisar os dados relacionados ao nível de atividade física consideraram-se os critérios de frequência e duração, dividido em cinco categorias:

1. Muito ativo: aquele que cumpriu as recomendações de:

a) Vigorosa: ≥ 5 dias/semana e ≥ 30 minutos por sessão e/ou

b) Vigorosa: ≥ 3 dias/semana e ≥ 20 minutos por sessão + moderada e/ou caminhada: ≥ 5 dias/semana e ≥ 30 minutos por sessão.

2. Ativo: aquele que cumpriu as recomendações de:

a) Vigorosa: ≥ 3 dias/semana e ≥ 20 minutos por sessão; e/ou

b) Moderada ou caminhada: ≥ 5 dias/semana e ≥ 30 minutos por sessão; e/ou

c) Qualquer atividade somada: ≥ 5 dias/semana e ≥ 150 minutos/sem (caminhada moderada + vigorosa).

3. Irregularmente ativo: aquele que realizou atividade física, porém insuficiente para ser classificado como ativo, pois não cumpriu as recomendações quanto à frequência ou duração. Para realizar essa classificação soma-se a frequência e a duração dos diferentes tipos de atividades (caminhada + moderada + vigorosa). Este grupo foi dividido em dois subgrupos de acordo com o cumprimento ou não de alguns dos critérios de recomendação.

Irregularmente ativo A: aquele que atinge pelo menos um dos critérios da recomendação quanto à frequência ou quanto à duração da atividade:

¹¹Abdelmalek, M.F., Suzuki, A., Guy, C., Unalp-Arida, A., Colvin, R., Johnson, R.J., Diehl, A.M., *Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2010. 51(6): p. 1961-71.

¹²Matsudo, S.; Araújo, T.; Matsudo, V.; Andrade, D.; Andrade, E.; Oliveira, L.C.; Braggion, G.; Questionário Internacional de Atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil; 2001; Atividade Física e Saúde; 6(2): p. 5-18.

a) Frequência: 5 dias /semana ou

b) Duração: 150 min / semana

Irregularmente ativo B: aquele que não atingiu nenhum dos critérios da recomendação quanto à frequência nem quanto à duração.

4. Sedentário: aquele que não realizou nenhuma atividade física por pelo menos 10 minutos contínuos durante a semana.

3.5– Análise estatística

Os dados coletados foram digitados em banco de dados criados em Excel 2013 (Microsoft Office 2013) e as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software SPSS versão 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Os resultados foram descritos por meio de frequências e porcentagens para as variáveis categóricas, de medidas de tendência central (médias) e de dispersão (desvio padrão) para as variáveis quantitativas de distribuição normal e mediana e intervalo interquartil para variáveis de distribuição assimétrica. Foi utilizado o teste Shapiro-Wilk para normalidade dos dados.

Empregou-se o teste qui-quadrado (χ^2) ou teste exato de Fisher na comparação entre variáveis dicotômicas (perfil sérico alterado, IMC categorizado, uso de medicação, sintomas relatados, categorias da SM). O teste t para comparação de médias de variáveis de distribuição normal e o teste U de Mann-Whitney na comparação de variáveis de distribuição assimétrica.

Utilizou-se análise de regressão logística para investigar se a frutose era um fator associado à obesidade, fibrose hepática e hipertrigliceridemia. As variáveis com $p < 0,20$ na análise de regressão logística univariada foram selecionadas para a construção do modelo final. A adequação do modelo de regressão logística foi realizada pelo teste de Hosmer Lemeshow.

4- ARTIGO 1

AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE BEBIDAS INDUSTRIALIZADAS EM PACIENTES COM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

Resumo

Introdução: Doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) é condição clínico-patológica caracterizada por acúmulo de lipídeos no fígado de pacientes sem histórico de consumo de bebidas alcoólicas, podendo variar de esteatose simples a cirrose e associar-se ao carcinoma hepatocelular. Recentemente, a DHGNA tem sido associada ao consumo excessivo de xarope de milho com alto teor de frutose principalmente em obesos. Neste estudo investigou-se o consumo de bebidas industrializadas ricas em frutose em pacientes com DHGNA e a sua relação com fatores de risco para DHGNA. **Metodologia:** Foram avaliados pacientes com diagnóstico histológico de DHGNA submetidos à avaliação clínica, laboratorial, antropométrica, nutricional e da composição corporal por bioimpedância elétrica. Os hábitos alimentares e o consumo de bebidas industrializadas (quantidades de copos ingeridos por semana) foram investigados por meio de três recordatórios. Fibrose foi avaliada pela histologia hepática (Metavir) e/ou pelo *NAFLD score*. **Resultados:** Foram incluídos 51 pacientes com idade média de $54,4 \pm 12,3$ anos, 80,4% do sexo feminino, com média de consumo de bebidas industrializadas de $5,8 \pm 5,5$ copos/semana, separados em consumo mínimo a moderado (inferior a 7 copos/semana, grupo A) e consumo diário (grupo B). A maioria (78,4%; 40/51 dos pacientes apresentava ENA à histologia. Houve tendência à maior frequência de fibrose no grupo A (24/31 vs. 11/20; $p=0,09$). Obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) foi associada ao consumo diário de bebidas industrializadas (18/31 vs. 17/20; $p=0,04$). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em relação ao consumo alimentar de macronutrientes, bem como em relação à ocorrência diabetes/resistência a insulina. O grupo B apresentou maior frequência de hipertrigliceridemia (15/20 vs. 15/31; $p=0,05$) e maior valor sérico médio de triglicerídeos ($155,4 \pm 62,1$ vs. $216,7 \pm 118,2$; $p=0,03$). Houve correlação positiva, embora fraca, ($r=0,29$; $p=0,04$) entre o número de copos das bebidas e níveis de triglicerídeos. **Conclusão:** O consumo diário de bebidas industrializadas foi confirmado em 39,2% da população com DHGNA. O aumento do consumo de bebidas industrializadas com alto teor

de frutose, caracterizado como consumo ≥ 7 copos semanais se correlacionou ao aumento de triglicerídeos séricos em pacientes com DHGNA.

Palavras-chaves: doença hepática gordurosa não alcoólica, esteatohepatite não alcoólica, xarope de milho com alto teor de frutose.

Introdução

Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é condição clínico-patológica que abrange um espectro de alterações variáveis e pode se manifestar como esteatose simples, caracterizada por acúmulo de lipídios no parênquima hepático ou esteatohepatite não alcoólica (ENA) caracterizada por lesão dos hepatócitos (balonização), inflamação e fibrose com potencial progressão para cirrose^[1].

A prevalência da DHGNA varia de acordo com o método diagnóstico utilizado, estimando-se que esta ocorra em 6 a 35% da população mundial^[2]. A doença está fortemente associada à obesidade, diabetes mellitus e síndrome metabólica (SM). Estudos prévios estimam que a DHGNA acometa cerca de 75% dos obesos e a ENA mais de 20% desta população^[3].

O aumento da prevalência da DHGNA observado nas últimas décadas pode estar associado, ao menos parcialmente, com o aumento do consumo de frutose observada na dieta ocidental^[4]. O carboidrato predominantemente responsável pelo aumento do consumo calórico associado à dieta típica ocidental é a frutose, que é consumido tanto em sacarose (50% de frutose) ou xarope de milho com alto teor de frutose (42% ou 55% de frutose). Antes de 1900, norte-americanos consumiam aproximadamente 15g de frutose por dia (4% do total de calorias), principalmente por meio de frutas e vegetais. Antes da segunda guerra mundial, a ingestão de frutose aumentou para 24g por dia (5% do total de calorias); por volta de 1977, era de 37g por dia (7% do total de calorias); e em 1994, 55g por dia (10% das calorias totais)^[5]. O xarope de milho com alto teor de frutose é um adoçante utilizado amplamente pela indústria por sua capacidade em aumentar a vida de prateleira dos produtos e ser mais barato. Está presente nas bebidas industrializadas em geral.

Dados recentes de estudos nos quais se avaliou a associação entre o consumo excessivo desse adoçante e o desenvolvimento da DHGNA sugerem que esse consumo aumentado pode induzir resistência a insulina, hipertrigliceridemia pós-prandial e acúmulo de lipídios no fígado, principalmente em indivíduos com excesso de peso^[6].

O objetivo deste estudo é investigar a relação entre o consumo do xarope de milho com alto teor de frutose presente em bebidas industrializadas, fatores de risco para DHGNA e fatores metabólicos associados à doença.

Material e métodos

Trata-se de estudo transversal com inclusão prospectiva de pacientes diagnosticados com DHGNA atendidos no Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG que satisfizeram os critérios de inclusão e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, no período de janeiro a dezembro de 2014.

ENA ou esteatose simples foram diagnosticadas por biópsia hepática, realizada de acordo com os critérios médicos e não finalidade para o estudo, pelos critérios de Kleiner e col^[43]. A fibrose hepática foi avaliada pela classificação de Metavir^[44], sendo categorizada em dois grupos: sem fibrose (F0) ou com algum grau de fibrose (F1, F2, F3 ou F4). Além disso, foi calculado o *NAFLD score* ^[45] para todos os pacientes, utilizado para se avaliar presença de fibrose nos pacientes que possuíam biópsias antigas (período de um ano). Todos os pacientes do estudo não obtiveram perda de peso significativa entre o período de realização da biópsia e o início do estudo.

Foram obedecidos os seguintes critérios de inclusão: ausência de outras hepatopatias associadas (hepatopatia alcoólica – caracterizada pela ingestão >20g/dia de etanol para homens e >10g/dia de etanol para mulheres no período de um ano; hepatite B e C – caracterizadas pela presença dos marcadores antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) e anticorpo contra o vírus da hepatite C (anti-HCV), respectivamente; outras hepatopatias: autoimunes, doença de Wilson, deficiência de alfa1-antitripsina, hemocromatose hereditária – caracterizadas pelos marcadores específicos; ausência de história prévia de cirurgia de *bypass* gástrico ou *bypass* jejuno ileal; ausência de uso nos últimos seis meses de droga que sabidamente pode causar esteatose hepática; ausência de contato com petroquímicos.

SM foi definida segundo os critérios adotados pela Federação Internacional de Diabetes, que segundo a Harmonização da Síndrome Metabólica: presença de obesidade central (CC ≥ 90 cm para homens e ≥ 80 cm para mulheres) adicionada de pelo menos mais dois dos seguintes fatores: triglicerídeos ≥ 150 mg/dl, HDL <40mg/dl para homens ou <50mg/dl para mulheres, glicemia de jejum ≥ 110 mg/dl, hipertensão arterial (pressão arterial $\geq 130/85$ mmHg)^[46].

O peso corporal foi aferido em balança Filizzola®, mecânica, capacidade de 150kg, com divisões de 100g, com o indivíduo em posição ereta, com o mínimo de roupa possível ou com roupas leves, descalço ou com meias. A estatura foi medida por estadiômetro da própria balança, com indivíduo em posição ereta olhando para o horizonte, descalço ou com meias. O IMC foi calculado segundo a fórmula peso dividido pela altura ao quadrado, e classificado segundo o critério da Organização Mundial de Saúde, o qual classifica como baixo peso IMC $<18,5\text{kg/m}^2$, eutrofia IMC entre 18,5 e $24,9\text{kg/m}^2$, sobrepeso IMC entre 25 e 29kg/m^2 e obeso IMC $\geq 30\text{kg/m}^2$. CC foi aferida por meio de técnica padronizada, utilizando-se fita antropométrica, de dois metros, inelástica utilizando-se o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca^[47]. A avaliação da composição corporal foi realizada por meio do monitor de composição corporal bioimpedância elétrica (marca *Biodynamics* modelo 450, versão v.5.1 - internacional).

Foram solicitados exames laboratoriais segundo a rotina do ambulatório de DHGNA: colesterol total e frações, triglicerídeos, glicemia e insulina de jejum, AST, ALT, FA, GGT, ácido úrico, bilirrubinas total e frações, hormônio estimulante da tireóide (TSH), albumina, creatinina, vitamina D, ferro, ferritina, índice de saturação da transferrina, potássio e hemograma completo. Todos os exames foram realizados no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG, com o paciente em jejum de no mínimo 12 horas.

Foram feitos três recordatórios alimentares em dias diferentes, dois dias de semana e um final de semana. Trata-se de método de coleta de dados sobre a ingestão de alimentos e bebidas consumidos ao longo das últimas 24 horas, refletindo, portanto, o consumo recente. A quantidade dos alimentos foi relatada em medidas caseiras^[48], sendo depois convertidas em gramas e analisadas segundo as tabelas de composição de alimentos brasileiras: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)^[49] e Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)^[50]. Foram calculados ingestão de: carboidratos, proteínas, lipídeos, gorduras monossaturadas, gorduras poliinsaturadas, gorduras saturadas, fibras; sendo depois comparados com a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, considerando-se a ingestão calórica total de cada indivíduo e avaliada segundo as categorias: dentro da recomendação e acima da recomendação.

O consumo de frutose (HFCS) foi analisado por meio da frequência semanal do consumo de cada bebida (sucos industrializados e refrigerantes) e a quantidade de copos

ingeridos. Para a análise, os pacientes foram divididos em dois grupos: consumo mínimo a moderado (1 a 7 copos por semana) e consumo diário (≥ 7 copos por semana).^[6]

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software SPSS versão 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Utilizou-se o teste Shapiro-Wilk para se testar a normalidade dos dados. Para a análise univariada, empregou-se o teste qui-quadrado (χ^2) ou teste exato de Fisher na comparação entre variáveis dicotômicas (perfil sérico alterado, IMC categorizado, uso de medicação, sintomas relatados, categorias da SM), o teste t para comparação de médias de variáveis com distribuição normal e o teste U de Mann-Whitney na comparação de variáveis de distribuição assimétrica. As variáveis com $p < 0,20$ na análise univariada foram incluídas em modelo multivariado. E as variáveis categóricas significativas passaram pelo teste de correlação de Pearson.

Resultados

Foram incluídos 51 pacientes com diagnóstico de DHGNA à biópsia. O consumo médio da população estudada foi $5,8 \pm 5,5$ copos de bebidas industrializadas por semana. A Tabela 1 mostra as características demográficas e nutricionais dos indivíduos de acordo com a quantidade de bebida industrializada consumida. A idade média da população foi $54,4 \pm 12,3$ anos, sem diferença entre os grupos (consumo mínimo a moderado – grupo A e consumo diário – grupo B). Os pacientes dos grupos A e B tiveram média de peso, IMC, CC, porcentagens de massa magra e gorda praticamente semelhantes, sem diferença significativa entre eles.

Tabela 1: Perfil demográfico e nutricional dos pacientes com DHGNA em relação ao consumo de bebidas industrializadas

Variável	< 7 copos (n=31)	≥7 copos (n=20)	p
Sexo (n /%)			0,43 [‡]
Feminino	(26/31) 83,9%	(15/20) 71,4%	
Masculino	(5/31) 16,1%	(5/20) 28,6%	
Idade (anos)	56,3 ± 11,4	51,4 ± 13,3	0,16 [£]
(média ± DP)			
Peso (Kg)	82,7 ± 16,4	83,3 ± 12,4	0,84 [£]
(média ± DP)			
Estatura (m)	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,55 [£]
(média ± DP)			
IMC (Kg/m ²)	31,8 ± 5,2	32,5 ± 3,1	0,54 [£]
(média ± DP)			
Massa magra (%)	64,9 ± 5,7	63,0 ± 5,7	0,27 [£]
(média ± DP)			
Massa gorda (%)	35,1 ± 5,7	37,0 ± 5,7	0,27 [£]
(média ± DP)			
CC (cm) (média ± DP)	101,8 ± 22,6	105,6 ± 11,2	0,49 [£]

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; DP: desvio-padrão; n: número de observações; IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura

[‡] teste qui quadrado

[£]teste t

A Tabela 2 mostra as características diagnósticas segundo o consumo das bebidas industrializadas. A população estudada tinha proporção maior de pacientes com ENA em relação à esteatose sem inflamação (78,4% vs. 21,6%; p=0,09), porém sem diferença significativa entre os grupos. Não houve associação significativa entre a presença de

fibrose (Metavir $\geq$ F1 ou NAFLD score $>0,675$) e consumo de bebidas ($p=0,09$). Em 64,6% dos casos o diagnóstico de fibrose foi realizado pela biópsia hepática e 35,4% pelo *NAFLD score*.

Tabela 2: Relação entre características histológicas e o consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA

Variável	População		<7 copos		≥ 7 copos		p
	N	%	N	%	n	%	
Esteatose	11	21,6	5	16,1	6	30	0,24†
Esteatohepatite (NAS >4)	40	78,4	26	83,9	14	70	
Fibrose*							0,09†
Sim	35	68,6	24	77,4	11	55	
Não	16	31,4	7	22,6	9	45	

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; n: número de observações; NAS: escore de atividade da doença.

† teste qui quadrado

*Metavir ≥ 1 para biópsia recente ou NAFLD score $>0,675$ para biópsia antiga

A Tabela 3 apresenta as características relacionadas ao estado nutricional e ao estilo de vida dos pacientes com DHGNA, de acordo com o consumo de bebidas industrializadas. A maioria dos pacientes era obesa (68,6%) pelo critério de IMC (IMC $>30\text{kg/m}^2$), sendo maior a prevalência de obesidade grau 1 (45,1%). Apenas 2% dos pacientes eram eutróficos. A obesidade central ocorreu em 96,1% desses pacientes.

Em relação ao consumo de bebidas industrializadas, observou-se prevalência significativamente menor de obesidade no grupo A (58,1%) em relação ao grupo B (85%) ($p=0,04$).

A proporção de indivíduos sedentários foi semelhante entre os pacientes do grupo A (48,4%) e grupos B (50%).

Tabela 3: Relação entre estado nutricional, estilo de vida e o consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA

Variável	População		< 7 copos (n=31)		≥ 7 copos (n=20)		p
	N	%	N	%	N	%	
Diagnóstico nutricional							0,12
Eutrofia	1	2,0	1	3,2	0	0	
Sobrepeso	15	29,4	12	38,7	3	15	
Obesidade grau 1	23	45,1	10	32,3	13	65	
Obesidade grau 2	10	19,6	6	19,3	4	20	
Obesidade grau 3	2	3,9	2	6,5	0	0	
Obesidade central							0,75
Sim	49	96,1	30	96,8	19	95	
Não	2	3,9	1	3,2	1	5	
Obesidade segundo IMC							0,04
Sim	35	68,6	18	58,1	17	85	
Não	16	31,4	13	41,9	3	15	
Atividade física							0,99
Sedentário	25	49,0	15	48,4	10	50	
Irregularmente ativo	21	41,2	13	41,9	8	40	
Ativo	5	9,8	3	9,7	2	10	

n: número de observações; IMC: índice de massa corporal

^{||} teste exato de Fisher

A Tabela 4 apresenta as características relacionadas ao consumo alimentar em relação ao consumo de bebidas industrializadas. As bebidas industrializadas representam em média 9,1% do consumo total de carboidratos pela população. O consumo alimentar médio de carboidratos foi semelhante entre os dois grupos, assim como o consumo médio de açúcar de adição em relação aos carboidratos totais consumidos.

O consumo alimentar de lipídios, ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados também foi semelhante entre os grupos. Ácidos graxos saturados tiveram tendência a serem mais consumidos entre o grupo com consumo diário (7,6% vs. 9,3%; $p=0,06$).

Tabela 4: Relação entre consumo de carboidratos, lipídios totais, monoinsaturados, poli-insaturados, saturados e o consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA utilizando-se a média de três recordatórios 24 horas.

Variável	Recomendação	Total (n=41)	< 7 copos (n = 24)	≥ 7 copos (n = 17)	P
Carboidratos (Média ± DP)	50 a 60% das energias totais	50,8 ± 11,9	49,7 ± 12,3	52,3 ± 11,4	0,48 [£]
Açúcar de adição (Média ± DP)		5,3 ± 3,6	5,3 ± 4,1	5,4 ± 2,9	0,92 [£]
Bebidas industrializadas (Mediana IIQ)		9,1 ; 14,5 – 2,1	2,3 ; 7,4 – 1,8	13,8; 19,7 – 11,1	0,00 [£]
Lipídios (Mediana IIQ)	25 a 35% das energias totais	34,1; 39,0 – 27,2	33,1; 39,1 – 23,3	37,0; 39,0 – 28,0	0,72 [£]
Ácidos graxos	< 10% das energias totais	8,3 ± 3,0	7,6 ± 2,6	9,3 ± 3,2	0,06 [£]

saturados					
(Média ± DP)					
Ácidos	Até 10% das	7,9; 9,7 – 8,1; 9,9 – 7,3	7,6; 9,4 – 0,21 [€]		
graxos poli-	energias totais	7,3	6,7		
insaturados					
(Mediana					
IIQ)					
Ácidos	Até 20% das	11,4 ± 2,9	11 ± 2,4	11,9 ± 3,5	0,29 [£]
graxos	energias totais				
monoinsatura					
dos					
(Média ± DP)					

n: número de observações; DP: desvio padrão.

[€] teste U de Mann-Whitney

[£] teste T

A Tabela 5 apresenta as características clínicas dos pacientes com DHGNA, segundo consumo de bebidas industrializadas.

Aproximadamente 75% da população estudada apresentava RI ou DM. Hipertrigliceridemia teve tendência a ocorrer com maior frequência entre os pacientes do grupo B, porém também sem significância estatística (75% vs. 48,4%; p=0,06)

Tabela 5: Características clínicas e relação com o consumo de bebidas industrializadas em pacientes com DHGNA

Variável	População		< 7 copos (n=31)		≥ 7 copos (n=20)		P
	N	%	N	%	N	%	
DM	22	43,1	14	45,2	8	40	0,71†
RI	16	31,4	10	32,3	6	30	0,86†
DM ou RI	38	74,5	24	77,4	14	70	0,55†
Hipercolesterolemia	34	66,7	20	64,5	14	70	0,68†
HDL baixo	33	64,7	19	61,3	14	70	0,52†
Hipertrigliceridemia	30	58,8	15	48,4	15	75	0,05†
Hipertensão	37	72,5	24	77,4	13	65	0,33†
SM	44	86,3	27	87,1	17	85	0,83†

n: número de observações; DM: diabetes mellitus; RI: resistência à insulina; SM: síndrome metabólica

† teste qui quadrado

A Tabela 6 mostra o perfil bioquímico sérico dos pacientes segundo consumo das bebidas industrializadas.

A glicemia encontrava-se alterada nos dois grupos (103,5 vs. 100). Pacientes com consumo diário apresentavam níveis séricos de colesterol total e LDL (123,1 vs. 114,7) semelhantes quando comparado ao outro grupo.

Os níveis de triglicerídeos e *VLDL* estavam mais elevados no grupo B em comparação ao outro grupo (216,7 mg/dl vs. 155,4 mg/dl e 44,1 mg/dl vs. 30,5 mg/dl, respectivamente) com diferença estatisticamente significativa ($p=0,03$ e $0,01$).

Não houve diferença entre os níveis séricos de enzimas hepáticas entre os grupos A e B.

Tabela 6: Perfil bioquímico sérico em relação ao consumo de bebidas industrializadas de pacientes com DHGNA

Variável	População	< 7 copos (n=31)	≥ 7 copos (n=20)	P
Mediana; IIQ				
Glicemia (mg/dL)	101,0; 144,0 – 89,0	104,0; 172,0 – 89,0	99,0; 123,5 – 90,0	0,34 ^ε
HOMA	4,4; 8,3 – 2,7	5,3; 9,4 – 2,5	4,2; 6,8 – 2,8	0,61 ^ε
Vitamina D (ng/mL)	22,0; 28,6 – 19,0	21,0; 32 – 18,5	22,0; 25,0 – 20,0	0,45 ^ε
Média ± DP				
Insulina (Uu/mL)	18,4 ± 10,2	19,4 ± 11,4	26,7 ± 46,6	0,44 ^ε
Colesterol total (mg/dL)	196,7 ± 35,9	191,8 ± 37,6	211,0 ± 33,4	0,06 ^ε
HDL (mg/dL)	43,4 ± 12,4	46,5 ± 11,1	44,1 ± 24,8	0,44 ^ε
VLDL (mg/dL)	39,3 ± 22,1	30,5 ± 11,9	44,1 ± 24,9	0,01^ε
LDL (mg/dL)	114,2 ± 29,3	114,7 ± 34,6	123,1 ± 21,2	0,33 ^ε
Triglicerídeos (mg/dL)	194,7 ± 104,5	155,4 ± 62,1	216,7 ± 118,2	0,03^ε
AST (x valor de referência)	1,1 ± 0,7	1,1 ± 0,7	1,1 ± 0,7	0,82 ^ε
ALT (x valor de referência)	1,0 ± 0,9	0,9 ± 0,5	1,2 ± 1,2	0,12 ^ε
Gama GT (x valor de referência)	0,7 ± 0,5	0,7 ± 0,5	0,7 ± 0,5	0,94 ^ε
Fosfatase alcalina (x valor de referência)	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,5	0,9 ± 0,2	0,56 ^ε
Ácido úrico (mg/dL)	5,9 ± 1,4	5,4 ± 1,4	6,1 ± 1,3	0,11 ^ε
Albumina (g/dL)	4,4 ± 0,2	4,3 ± 0,4	4,3 ± 0,3	0,97 ^ε

DP: desvio-padrão; IIQ: intervalo interquartil; HOMA: *homeostatic model assessment*; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade.

^εteste U de Mann-Whitney

£teste T

As variáveis contínuas significativas foram avaliadas pela correlação de Sperman (triglicerídeos) ou Pearson (*VLDL*). As variáveis cujo valor foi $<0,20$ na análise univariada foram testadas em análise multivariada final, porém nenhuma variável manteve sua significância estatística.

Tabela 7: Análise de correlação entre consumo de bebidas industrializadas (copos por semana) e perfil lipídico sérico.

Variável	Número de copos semanais ingeridos	
	r	P
Triglicerídeos (mg/dl)	0,29	0,04
<i>VLDL</i> (mg/dl)	0,26	0,05

Tabela 8: Associação entre consumo de bebidas industrializadas, histologia hepática e fatores da SM (análise multivariada)

Variável	Fibrose			Obesidade			Hipertrigliceridemia		
	OR	IC95	P	OR	IC95	p	OR	IC95	p
		%			%			%	
Consumo	≥ 7	1,41	0,45	0,56	0,24	0,05 - 0,05	0,31	0,09 - 0,06	
copos		-4,39			1,01			1,07	

OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança.

Em síntese, o consumo diário de bebida industrializada com alto teor de frutose se correlacionou, positivamente, embora com intensidade fraca, com o aumento dos triglicerídeos séricos, à análise univariada.

Discussão

No presente estudo foi investigada associação entre o consumo de bebidas industrializadas ricas em xarope de milho com alto teor de frutose e características clínicas e laboratoriais da DHGNA, em pacientes que apresentavam diagnóstico DHGNA

comprovado por biopsia hepática. Foi encontrado no grupo estudado, associação entre o consumo aumentado dessas bebidas e o aumento de triglicerídeos séricos, corroborando estudos anteriores. Observamos também relação entre o consumo diário de bebidas industrializadas e a fração do colesterol *VLDL*, provavelmente em decorrência do papel do *VLDL* no transporte de triglicerídeos.

Não encontramos associação entre os parâmetros antropométricos (massa magra, massa gorda, circunferência da cintura e IMC) e a quantidade de bebida industrializada consumida. Grande parte (49%) dos nossos pacientes não realizava atividade física e tinha dificuldade em seguir recomendações em relação à dieta. Em relação à composição corporal, praticamente a totalidade dos pacientes apresentava excesso de peso e porcentagem de massa gorda e CC aumentadas, fatores estes relacionados à obesidade, síndrome metabólica e DHGNA.

Em relação ao consumo de macronutrientes, as porcentagens de consumo de carboidratos e lipídios foram semelhantes nos dois grupos, com pequena tendência a maior consumo de ácidos graxos saturados pelos pacientes com consumo diário de bebidas industrializadas, porém dentro da recomendação de consumo diário da I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica^[51]. Contudo o consumo de lipídios totais excedeu o recomendado pela Diretriz entre os pacientes com consumo diário de bebidas industrializadas, sendo que Ferolla et al.^[52] também encontraram consumo aumentado de lipídios totais em pacientes do mesmo centro de referência em tratamento de DHGNA, além também de consumo aumentado de ácidos graxos saturados e calorias totais consumidas.

No presente estudo, aproximadamente 9% dos carboidratos totais ingeridos eram na forma de bebidas industrializadas com alto teor de frutose. Ferolla et al.^[52] encontraram consumo de alimentos contendo o grupo açúcar duas vezes superior ao recomendado pelo Guia Alimentar da População Brasileira^[53], corroborando nossos dados de que essa população tem consumo aumentado de carboidratos simples. Nos Estados Unidos, o consumo de bebidas industrializadas soma aproximadamente 8 a 9% dos carboidratos totais consumidos^[54], dado semelhante àquele do presente estudo. A relação positiva entre maior consumo de carboidratos e risco de inflamação havia sido relatada por outros autores, porém sem caracterização da fonte dos carboidratos consumidos^[55]. No presente estudo descrevemos a fonte de carboidratos consumidos mas possivelmente devido

pequeno tamanho amostral e proporção diferente entre pacientes com ENA e esteatose simples não foi encontrado diferenças associadas à presença maior de inflamação à biopsia hepática ou à fibrose pelo NAFLD score uma vez que estudo anterior encontrou, associação entre consumo significativamente maior de carboidratos simples (menor consumo de cereais e maior consumo de alimentos açucarados) em pacientes com ENA quando comparados àqueles com esteatose simples ^[56].

O consumo de bebidas industrializadas foi demonstrado como fator preditor independente para desenvolvimento de sobrepeso e obesidade em indivíduos saudáveis ^[57] e também para ganho de peso e aumento do risco de se desenvolver diabetes tipo 2 em mulheres^[58]. O aumento de peso está relacionado ao excesso de ingestão calórica advinda de bebidas industrializadas. Além disso, estudos mostram que cargas elevadas de frutose diminuem o conteúdo hepático de adenosina trifosfato, podendo ocorrer diminuição da ligação celular de insulina, redução no número de receptores de insulina e subsequente resistência a insulina^[59]. Portanto, a ingestão de frutose induz perfil endócrino que poderia favorecer o aumento da ingestão de alimentos e ganho de peso, por diminuir os níveis de insulina e leptina^[23]. A frutose também aumenta a lipogênese de novo e reduz a oxidação de ácidos graxos, podendo ocasionar acúmulo de gordura hepática, inflamação e resistência à insulina^[59]. Os resultados de uma recente meta-análise indicam uma associação positiva entre a ingestão de bebidas industrializadas e risco 30% maior de diabetes tipo 2 ^[60].

Corroborando estudos prévios ^{[6][36]}, no presente estudo foi verificado que 85% dos indivíduos que consumiram as bebidas diariamente eram obesos, em comparação com 58% que consumiram as bebidas moderadamente. Consumo excessivo dessas bebidas em indivíduos com DHGNA e em pacientes com maior IMC foram verificados em comparação aos controles em dois estudos prévios^[40, 61], entretanto nos mesmos estudos anteriores e também no presente estudo, não foram encontradas diferenças entre consumo de carboidratos em geral, lipídios e proteínas, bem como consumo total de calorias. Zelber-Sagi et al.^[62] observaram consumo duas vezes maior de bebidas industrializadas em indivíduos com DHGNA comparado a indivíduos com fígado normal. Além disso, o consumo foi associado significativamente a aumento do risco de desenvolvimento de DHGNA (OR=1,45; IC95%=1,13-1,85; $p<0,05$). Recentemente, a redução no consumo de frutose foi também associada a melhora da esteatose e sensibilidade à insulina. Volynets et

al.^[63] encontraram diminuição significativa do IMC e conteúdo de lipídios hepáticos por meio de ressonância magnética, após intervenção de seis meses visando diminuição em 50% do consumo de alimentos ricos em frutose em 10 pacientes diagnosticados com DHGNA. Os autores observaram também melhora na sensibilidade à insulina, diminuição do consumo diário de calorias e gorduras saturadas após intervenção. Neste contexto, fica em aberto a questão se a melhora se deveu à redução no consumo específico de frutose ou à redução do consumo total de calorias.

O consumo de bebidas industrializadas tem sido associado a aumento de triglicerídeos séricos de indivíduos saudáveis, como observado por Silbernagel et al.^[30] em seu estudo exploratório, no qual foi administrada a indivíduos saudáveis, durante quatro semanas, suplementação de glicose ou frutose (150g por dia). No presente estudo foram encontrados valores séricos de triglicerídeos significativamente superiores nos indivíduos que consumiam as bebidas industrializadas diariamente, sendo também observada correlação positiva significativa entre ingestão de bebidas e triglicerídeos séricos. Sugere-se que o consumo de bebidas industrializadas se constitui fator de risco para DHGNA. O mecanismo responsável pelo aumento de triglicerídeos induzido pela frutose parece ser o aumento da lipogênese de novo e o de seus precursores, incluindo a geração de glicerol e aumento da secreção de VLDL, assim como depuração de partículas ricas em triglicerídeos [19].

Nosso resultado está de acordo com os resultados de Assy et al.^[36] e Ouyang et al.^[35] que encontraram também consumo significativamente maior de bebidas industrializadas em indivíduos com DHGNA em comparação a controles, além de maiores valores de triglicerídeos e IMC. Assy et al.^[36] encontraram também consumo aumentado de lipídios, assim como observado no presente estudo, porém sem significância estatística.. Ademais, Abdelmalek et al.^[6] encontraram resultados parecidos aos do presente estudo no que se refere ao aumento do IMC e triglicerídeos séricos em consumidores diários das bebidas, além de *HDL* baixo sendo que o consumo diário também se associou a estágios mais avançados de fibrose (OR=2,6; IC95% 1,4-5,0; p<0,01).

Como mencionado anteriormente, a ausência de associação entre fibrose e aumento da ingestão de bebidas industrializadas no presente estudo pode ter sido devida ao tamanho amostral relativamente pequeno e ao número limitado de pacientes com esteatose simples em relação àqueles com fibrose. Outras limitações do presente estudo se devem a

dificuldades inerentes ao método do recordatório alimentar, no qual os pacientes tendem a subestimar as quantidades de porções ingeridas, e à característica transversal do estudo que nos impede de estabelecer relações de causa-efeito. Além disso, o Brasil não possui tabela de composição de alimentos com as medidas de frutose dos alimentos e bebidas, motivo pelo qual não foi possível quantificar o consumo em gramas por dia.

Consideramos que nosso estudo corrobora o resultado da maioria dos poucos estudos atualmente publicados nos quais se encontrou relação entre o consumo aumentado de frutose e hipertrigliceridemia associada à DHGNA. Em estudos experimentais, observa-se que a administração de frutose reproduz quase todas as características da síndrome metabólica e doenças associadas que ocorre em seres humanos, como resistência a insulina, hipertensão, doença hepática gordurosa não alcoólica e a própria síndrome metabólica^[60]. No entanto, em contrapartida aos nossos resultados e aos estudos da literatura citados anteriormente, estudo epidemiológico em finlandeses idosos não evidenciou associação entre consumo de bebidas industrializadas e prevalência da DHGNA. Foi observado que os pacientes dos grupos com os maiores quartis de consumo apresentavam menor risco de desenvolvimento da doença^[41]. Esta controvérsia reitera de outros estudos preferencialmente de estudos prospectivos para se avaliar melhor o papel causal da frutose no desenvolvimento da DHGNA. Além disso, mais dados são necessários para se avaliar se uma dieta com baixo conteúdo de frutose poderia melhorar as características da SM e da histologia hepática em indivíduos com DHGNA.

1. Corrado, R.L., D.M. Torres, and S.A. Harrison, *Review of treatment options for nonalcoholic fatty liver disease*. Med Clin North Am, 2014. **98**(1): p. 55-72.
2. Vernon, G., A. Baranova, and Z.M. Younossi, *Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults*. Aliment Pharmacol Ther, 2011. **34**(3): p. 274-85.
3. Lazo, M. and J.M. Clark, *The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective*. Semin Liver Dis, 2008. **28**(4): p. 339-50.
4. Lim, J.S., et al., *The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010. **7**(5): p. 251-64.
5. Vos, M.B., et al., *Dietary Fructose Consumption Among US Children and Adults-The Third National Health and Nutrition Examination Survey*. Medscape Journal of Medicine, 2008. **10**(7).
6. Abdelmalek, M.F., et al., *Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2010. **51**(6): p. 1961-71.

7. Kleiner, D.E., et al., *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2005. **41**(6): p. 1313-21.
8. Bedossa, P., T. Poynard, and F.T.M.C.S. GROUP, *An Algorithm for the Grading of Activity in Chronic Hepatitis C*. Hepatology, 1996. **24**(2): p. 289-293.
9. Angulo, P., et al., *The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD*. Hepatology, 2007. **45**(4): p. 846-54.
10. Alberti, K.G., et al., *Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity*. Circulation, 2009. **120**(16): p. 1640-5.
11. Organization, W.H., *Waist circumference and waist-hip ratio: Report of a WHO Expert Consultation*. 2008.
12. Holanda, L.B.B.F., A.A., *Applied methods in dietary assessment*. Rev Paul Pediatría, 2006. **24**(1): p. 62-70.
13. Estatística, I.B.d.G.e., *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil*. 2008-2009.
14. *Tabela de Composição de Alimentos - TACO*, N.d.E.e.P.e.A.-. NEPA, Editor. 2011: Universidade Estadual de Campinas.
15. Brandão, A.P., Nogueira, A.R., Oliveira, J.E., Guimarães, J.I., Suplicy, H., Brandão, A.A., et al., *I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica*. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2005. **84** (supl. 1): p. 1-28.
16. Ferolla, S.M., Ferrari, T.C.A., Lima, M.L.P., Reis, T.O., Tavares-Jr, W.C., Couto, O.F.M., Vidigal, P.V.T., Fausto, M.A., Couto, C.A., *Dietary patterns in Brazilian patients with non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study*. Clinics Science, 2012. **7**(51): p. 1-7.
17. Nutrição., B.M.d.S.S.d.A.à.S.C.-G.d.P.d.A.e., *Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável*
Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição.
Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2005.
18. Nielsen, S.J., Popkin, B.M., *Changes in beverage intake between 1977 and 2001*. Am J Prev Med, 2004. **27**(3): p. 205-10.
19. Solga, S., et al., *Dietary composition and Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. Digestive Diseases and Sciences, 2004. **49**(10): p. 1578-1583.
20. Toshimitsu, K., et al., *Dietary habits and nutrient intake in non-alcoholic steatohepatitis*. Nutrition, 2007. **23**(1): p. 46-52.
21. Liebman, M., et al., *Dietary intake-, eating behavior-, and physical activity-related determinants of high body mass index in the 2003 Wellness IN the Rockies cross-sectional study*. Nutrition Research, 2006. **26**(3): p. 111-117.
22. Schulze, M.B., et al., *Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-age woman*. JAMA, 2004. **292**(8): p. 927-934.
23. DiNicolantonio, J.J., J.H. O'Keefe, and S.C. Lucan, *Added fructose: a principal driver of type 2 diabetes mellitus and its consequences*. Mayo Clin Proc, 2015. **90**(3): p. 372-81.
24. Basciano, H., L. Federico, and K. Adeli, *Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia*. Nutr Metab (Lond), 2005. **2**(1): p. 5.

25. Wang, M., et al., *Association between sugar-sweetened beverages and type 2 diabetes: A meta-analysis*. J Diabetes Investig, 2015. **6**(3): p. 360-6.
26. Abid, A., et al., *Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome*. J Hepatol, 2009. **51**(5): p. 918-24.
27. Thuy, S., et al., *Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake*. The Journal of Nutrition, 2008. **138**(8): p. 1452-1455.
28. Zelber-Sagi, S., et al., *Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study*. J Hepatol, 2007. **47**(5): p. 711-7.
29. Volynets, V., et al., *A moderate weight reduction through dietary intervention decreases hepatic fat content in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a pilot study*. Eur J Nutr, 2013. **52**(2): p. 527-35.
30. Silbernagel, G., et al., *Effects of 4-week very-high-fructose/glucose diets on insulin sensitivity, visceral fat and intrahepatic lipids: an exploratory trial*. Br J Nutr, 2011. **106**(1): p. 79-86.
31. Vos, M.B. and J.E. Lavine, *Dietary fructose in nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2013. **57**(6): p. 2525-31.
32. Assy, N., et al., *Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors*. Canadian Journal of Gastroenterology, 2008. **22**(10).
33. Ouyang, X., et al., *Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease*. J Hepatol, 2008. **48**(6): p. 993-9.
34. Kanerva, N., et al., *Higher fructose intake is inversely associated with risk of nonalcoholic fatty liver disease in older Finnish adults*. Am J Clin Nutr, 2014. **100**(4): p. 1133-8.

5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo avaliou o consumo de bebidas industrializadas, dividindo os pacientes em grupos conforme o consumo dessas bebidas, a saber: grupo A com consumo mínimo a moderado e grupo B com consumo diário, e investigou a possibilidade de associação desse consumo com riscos metabólicos associados a DHGNA.

No Brasil, as tabelas de composição de alimentos não trazem informações a respeito da quantidade de xarope de milho com alto teor de frutose presente nos refrigerantes, doces e sucos industrializados, o que dificulta a quantificação; sendo necessários outros meios para estimar sua ingestão (por exemplo: copos das bebidas ingeridas por dia). No exterior existe quantificação desse adoçante nos alimentos e bebidas industrializadas, sendo mais fácil avaliar em gramas a quantidade ingerida do adoçante em um copo da bebida ou de outro produto industrializado que o tenha em sua composição. Seria necessária uma revisão da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos devido a importância da quantificação desse adoçante, além de sua relação com desenvolvimento de doenças.

O método de mensuração de consumo alimentar e de bebidas industrializadas foi o recordatório alimentar. Trata-se de método de fácil aplicação, porém tem como viés a necessidade da memória dos pacientes a respeito dos alimentos e quantidades ingeridas. Além disso, os pacientes costumam subestimar as porções ingeridas.

O estudo foi realizado apenas entre os pacientes que tinham a doença comprovada por biópsia hepática. Como as biópsias foram realizadas a partir de indicação clínica e não especificamente para pesquisa, não conseguimos ampliar o tamanho amostral no período do estudo. Além disso, na maioria das vezes, os pacientes com indicação de biópsia são os que apresentam formas mais avançadas, o que limitou a avaliação histológica de todo o espectro da doença.

O estudo não avaliou juntamente um grupo controle. Seria necessário para poder ser feita uma comparação entre os doentes e não doentes, e testar a hipótese em relação ao consumo de bebidas industrializadas.

Para melhor entendimento da ação dessas bebidas na DHGNA faz-se necessário estudos prospectivos com tamanho amostral maior.

Artigo aceito para publicação: Medical Sciences 2015

Review

High-Fructose intake in Obesity-Related Nonalcoholic Fatty Liver Disease

Geyza N. A. Armiliato, Silvia M. Ferolla*, Teresa C. A. Ferrari and Cláudia A. Couto*.

Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais,

Belo Horizonte 30130-100, Brazil; E-Mails: geyzaarmiliato@hotmail.com (G.N.A.A.); contato@silviaferolla.com.br tferrari@medicina.ufmg.br (T.C.A.F), clacouto@hotmail.com (C.A.C.).

[†] These authors contributed equally to this work.

*Authors to whom correspondence should be addressed; E-Mails: contato@silviaferolla.com.br (S.M.F.); cacouto@medicina.ufmg.br (C.A.C.); Tel.: +55-31-3409-9746; Fax: +55-31-3409-9664.

Abstract: Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common chronic liver disease worldwide. NAFLD involves a spectrum of conditions that include pure steatosis without inflammation, nonalcoholic steatohepatitis (NASH), fibrosis and cirrhosis. Insulin resistance (IR) plays a main role in the pathophysiology of NAFLD by causing lipid accumulation in the hepatocytes, which may be followed by lipid peroxidation, production of reactive oxygen species and consequent inflammation. The consumption of carbohydrates, particularly sugars additives high in fructose increased dramatically in the past decades and appears to be at least one very important contributing factor in NAFLD pathogenesis. Recent studies suggest that the excessive consumption of fructose from sugar additives (mainly those found in sweetened beverages and processed foods) is linked to development and severity of NAFLD by

induction of IR, postprandial hypertriglyceridemia and lipid accumulation in the liver, especially in individuals with overweight. We discuss the possible mechanisms involving fructose consumption, lipid accumulation and development of NASH. This review also presents the chief findings from all the studies that evaluated fructose consumption in human NAFLD.

Keywords:fatty liver; nonalcoholic fatty liver disease; nonalcoholic steatohepatitis; fructose/high fructose corn syrup

Introduction

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is characterized by excessive accumulation of triglycerides in hepatocytes in the absence of significant alcohol consumption. It encompasses a spectrum of clinicopathological conditions that ranges from simple hepatic steatosis (fatty liver) to hepatic steatosis associated with necroinflammatory lesions (nonalcoholic steatohepatitis [NASH]) with or without hepatic fibrosis that may progress to cirrhosis and hepatocellular carcinoma [1]. Currently, NAFLD is considered the most prevalent chronic liver disease in the Western and NASH is one of the most important emerging health issues [1,2]. NAFLD is usually associated with the metabolic syndrome (MS) [1,3,4]. The prevalence of obesity is rising worldwide and it parallels the increase in the frequency of NAFLD, cirrhosis, hepatocellular carcinoma and complications of the MS [5-7].

The pathogenesis of NAFLD is not fully elucidated, but insulin resistance (IR), and accumulation of triglycerides and free fatty acids in the liver play an essential role. Fat accumulation may be followed by subsequent inflammation and liver damage [2]. Many factors may influence the pathogenesis and progression of the liver disease including host factors (age, gender, presence of diabetes, genetic polymorphisms, and according to recent evidence, the gut microbiome) and environmental factors [1]. Increasing evidence suggests that the rise in consumption of carbohydrates, particularly refined sugars with high fructose content, appears to be a very important contributing factor in NAFLD pathogenesis. Although convince data demonstrate association between high-fructose intake and NAFLD progression in animals, data from human studies are less convincing. Searching for evidence of the role of fructose in the development and progression of NAFLD by addressing clinical human studies is the focus of the present comprehensive review. The clarification of this issue is of crucial importance to the development of new strategies to prevent and/or to treat NAFLD.

NAFLD and fructose intake: epidemiological evidence

The role of environmental factors in the pathogenesis of NAFLD is supported by the increased in the prevalence of this condition in recent years. Currently, estimates of the worldwide prevalence of NAFLD, based on a variety of diagnostic methods, ranges from

6.3% to 33% with a median of 20% in the general population [8]. Thus, this condition represents the most common chronic liver disease in the general population and is expected to rise as a result of aging population, improving control of other major causes of chronic liver disease, and the epidemics of obesity and diabetes [1, 7]. NASH, the progressive form of the disease, is the most common cause of cryptogenic cirrhosis and an increasingly common indication for liver transplantation [9].

Obesity is a common and well-documented risk factor for NAFLD. It is a known low-grade chronic inflammatory condition and obesity-related cytokines such as interleukin (IL)-6, adiponectin, leptin, and tumor necrosis factor (TNF)- α may play an important role in the development of NAFLD [5,10]. Both excessive body mass index (BMI) and visceral obesity are recognized risk factors for NAFLD. In patients with severe obesity undergoing bariatric surgery, the prevalence of NAFLD can exceed 90% and up to 5% of patients may have unsuspected cirrhosis [2,5,7]. A very high prevalence (up to 67%) of NAFLD, diagnosed by ultrasound (US), has been reported in individuals with type 2 diabetes mellitus (T2DM) [7, 11]. In a recent study, 127 of 204 diabetic patients displayed fatty infiltration on US, and 87% of the patients with fatty infiltration who underwent liver biopsy had histologic confirmation of NAFLD [12]. Additionally, the prevalence of NASH associated with both cirrhosis and hepatocellular carcinoma was reported to be high among patients with type 2 diabetes with or without obesity [1].

The general increase in calorie consumption, particularly of refined carbohydrates and fructose, correlates positively with an alarming increase in the prevalence of the MS and NAFLD [13]. Analysis of data from U.S. Government suggests an 18% and 41% increase in daily energy and carbohydrate intake between the 1977-1978 and 1999-2004, respectively [13]. Mean total fructose intake as a percentage of carbohydrate followed a similar trend pattern. More recently, data from the National Health and Nutrition Examination Survey suggest a decreasing trend in the average per capita and population mean energy intake of added sugar [14].

Relationship between fructose and risk of NAFLD

There has been much concern regarding the role of dietary fructose in the development of metabolic diseases. This concern arises from the increase in fructose consumption (and total added caloric sweeteners consumption) over the past few decades,

and from the increased use of high-fructose corn syrup (HFCS) as a sweetener. Besides the large increase in the consumption of soft drinks and 'tasty' artificial juices, a significant decrease in milk intake has also been reported [15].

In this context, some studies suggest that the over-consumption of HFCS, primarily in the form of soft-drink, is linked to weight gain, particularly in children and adolescents, and increased risk of NAFLD [16,17]. A recent study showed a positive correlation between increase in the prevalence of type 2 diabetes and increasing intake of refined carbohydrate (corn syrup) concomitantly with decreasing intake of fiber [18]. Consumption of sweetened beverages is considered clearly associated with excess calorie intake, and increased risk of diabetes and cardiovascular diseases (CVD) due to increase in the body weight. The Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans, 2015, advises restriction of refined carbohydrates for the most common diet-related chronic diseases such as CVD, hypertension, diabetes and diet-related cancers. Findings from a recent meta-analysis indicate a positive association between sugar-sweetened soft drink intake and type 2 diabetes risk, attenuated by adjustment for BMI [19].

Fructose is especially found in industrialized food and beverages. It is mainly consumed as added sugar. Soft drinks are the leading source of artificially added sugar in the world. Table sugar (sucrose) and HFCS are the two major dietary sources of fructose [20] while smaller consumed amounts come from fruits and honey. HFCS are quite commonly found in soft drinks and juice beverages, and are incorporated into many convenient pre-packaged foods, such as breakfast cereals and baked goods. HFCS contains variable amounts of fructose, between 55% and 90%. HFCS was first introduced into the human diet in 1967 [20, 21]. Since then, the use of HFCS has increased an alarming 1000% between 1970 and 1990 [16]. Data show that individual consumption of fructose was 0.5lb/year and 62.4lb/year, in 1970 and in 1997, respectively [16]. Between 1909 and 1997, general sweetener use increased by 86%; and specifically, corn syrup sweeteners, nowadays, represent over 20% of total daily carbohydrate intake, at an increase of 2100% [15, 16, 18].

The role of fructose in the etiology and pathogenesis of NAFLD

The cause and the pathogenesis of NAFLD are not completely understood, but IR,

accumulation of triglycerides and free fatty acids in the liver play an essential role. Fat accumulation may be followed by inflammation and liver damage [2]. According to the most accepted theory, IR plays a major role initiating hepatic fat accumulation and, potentially, NASH [22, 23]. IR affects lipid metabolism as it increases peripheral lipolysis, triglyceride synthesis, and hepatic uptake of free fatty acids (FFA) contributing to the accumulation of triglyceride in the hepatocytes [23]. This excessive deposition of triglyceride in the liver leads to a shift from carbohydrates to FFA mitochondrial β -oxidation, and may promote lipid peroxidation and accumulation of reactive oxygen species (ROS) in the hepatocytes. These compounds produce a variety of cellular stimuli with subsequent inflammatory response, hepatocellular injury and fibrosis [22,24].

Host factors, including age, gender, presence of diabetes, genetic polymorphisms and according to more recent evidence, the gut microbiome as well as environmental factors, especially the diet and physical activities are co-factors that influence NAFLD pathogenesis [1,25,26]. Intake of nutrients (including fructose found in sweetened beverages) may affect IR, carbohydrate levels, lipid metabolism, and hepatic steatosis [27]. A study including healthy volunteers showed that moderate amounts of fructose and sucrose significantly alter hepatic insulin sensitivity and lipid metabolism compared with similar amounts of glucose [28].

Obesity characterized by increased BMI or visceral obesity is a well-documented risk factor for NAFLD [6, 8]. Gut microbiota is linked to both: obesity and NAFLD. The microbiota is related to obesity because it can increase energy harvesting from the diet and enhances energy storage [29]. Small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) and increased intestinal permeability are related to NAFLD as they cause endotoxemia with subsequent cytokines release, systemic inflammation and IR [30]. It has been suggested that there is a causative relation between the increased prevalence of NAFLD and related disorders (i.e. obesity, diabetes, CVD, hypertension, cancer and MS) and intake of sweeteners, particularly fructose [14].

The “fructose hypothesis”, fructose plays a unique and causative role in the increasing rates of cardiovascular disease, hypertension, diabetes, cancer, and nonalcoholic fatty liver disease, in part has been driven by data from animal studies and in part by historical trends [15, 16]. Fructose is essentially metabolized in splanchnic tissues, where it is converted into glucose, glycogen, lactate, and, to a minor extent, fatty acids. In animal

models, high fructose diets clearly stimulate hepatic *de novo* lipogenesis and cause hepatic steatosis. Specifically, animal studies have shown that high-fructose, compared with glucose, diets result in increased hepatic triglyceride content [17–21]. Unlike glucose, high-fructose diets cause development of features of MS and fatty liver in animals, in association with the development of leptin resistance [31], microvascular disease, and vascular inflammation [15, 16, 32, 33]. In addition, some observations suggest that fructose may trigger hepatic inflammation and stimulate the development of hepatic fibrosis. These observations lead to consider the possibility that fructose may promote the progression of NAFLD to its more severe forms, i.e. NAHS and cirrhosis. Interestingly, it has been demonstrated in animal models that a four-week high-fructose diet increases lipopolysaccharide [LPS] contained in the gut microbiota and plasma LPS concentrations two to three times, which is considered metabolic endotoxemia. The induction of metabolic endotoxemia in mice, by continuous subcutaneous infusion of LPS during four weeks, was followed by a rise in the following parameters: fasting glycemia, insulinemia, markers of inflammation, liver triglyceride content, liver IR, and whole body, liver and adipose tissue weight gain in a similar amount as occurred in high-fat diet fed mice [10]. Large amount of fructose consumption is also related to increase in endotoxin serum levels, proinflammatory response and steatosis. It was demonstrated in an elegant study conducted by Bergheim et al., that mice fed with fructose showed increased endotoxin levels in the portal blood, and higher intrahepatic lipid accumulation, lipid peroxidation and TNF- α expression [34].

The increasing use of high fructose sweeteners over the past few decades has resulted in a considerable rise in the dietary intake of fructose. A high flux of fructose to the liver, the major organ capable of metabolizing this simple carbohydrate, disturbs normal hepatic carbohydrate metabolism leading to two major consequences: perturbations in glucose metabolism and glucose uptake pathways, and a significantly enhanced rate of *de novo* lipogenesis and triglycerides (TG) synthesis, driven by the high flux of glycerol and acyl portions of the TG molecules coming from fructose catabolism. These metabolic disturbances appear to underlie the induction of IR commonly observed with high fructose feeding in both humans and animal models. Fructose induced insulin resistant states are commonly characterized by a profound metabolic dyslipidemia, which appears to result from hepatic and intestinal overproduction of atherogenic lipoprotein particles [15].

Fructose metabolism is different from glucose metabolism in many aspects. First of all, fructose ingestion cause less satiety sensation comparing to glucose, as insulin and leptin secretion is lower after glucose ingestion. This may lead to increase in food ingestion and inhibition in ghrelin secretion. Ghrelin is the hormone related to satiety. Leptin usually promotes reduction of food ingestion while low levels in plasma induce hyperfagia. Ghrelin acts in opposition to leptin inducing hungry. Second, after ingestion, most part of fructose is transported to the liver via GLUT5. Third, the fructose is converted in two triose phosphates (dihydroxyacetone and glyceraldehyde-phosphate) and uric acid by the enzymes fructokinase and aldolase B. Finally, part of triose phosphate excess can be used for lipogenesis and exportation of very low density lipoprotein (VLDL) to the hepatocytes, causing steatosis [35].

Fructose metabolism is associated with increase in lipogenesis, reduction in lipids oxidation, increase in free radicals production and in gut permeability, SIBO, and elevated levels of lipopolysaccharides [36-38].

Hepatic *de novo* lipogenesis (DNL) - fatty acid and triglyceride synthesis - is markedly increased in patients with NAFLD [39]. According to a stable-isotope study, the increase in DNL in patients with NAFLD contributed to fat accumulation in the liver and development of NAFLD. Interestingly, DNL was responsible for 26% of accumulated hepatic triglycerides and 15-23% of secreted very low-density lipoprotein triglycerides (VLDL-TG) in patients with NAFLD compared to an estimate of <5% in healthy subjects and of 10% in obese people with hyperinsulinemia [40].

In humans, there is strong evidence, based on several intervention trials, that fructose overfeeding increases fasting and postprandial plasma triglyceride concentrations, which are related to stimulation of hepatic DNL and VLDL-TG secretion, in association with decreased VLDL-TG clearance [41-43]. Recent data suggest that increased fructose consumption enhances fat mass, DNL and inflammation, and also induces IR and postprandial hypertriglyceridemia, particularly in overweight individuals (32, 33, 44-46). However, in contrast to animal models, fructose intake by humans as high as 200g/day decrease only modestly hepatic insulin sensitivity, and has no effect on whole body (muscle) insulin sensitivity. A possible explanation may be that IR and dysglycemia develop mostly in the presence of sustained fructose exposures associated with changes in body composition. Such effects are observed with highly daily fructose intake, and there is

no solid evidence that fructose, when consumed in moderate amounts, has deleterious effects [38,47,48].

Lecoultre et al., assessed the association between intrahepatic fat content and IR with daily fructose and energy intake during short-term overfeeding (6-7 days) in healthy male subjects [38]. The authors concluded that short-term overfeeding with fructose (up to 4g fructose/kg/day) or glucose decreases hepatic insulin sensitivity and increases hepatic fat content. These observations suggest the possibility of short-term regulation of hepatic glucose metabolism by simple carbohydrates [38]. Considering that cardiovascular complications are a leading cause of death in NAFLD patients, a recent study showed a significant improvement in adipose insulin sensitivity, levels of high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and low-density lipoprotein (LDL) oxidation in adolescents with NAFLD after reduction of fructose intake, which suggest that reduction in fructose consumption improves several important factors related to CVD despite a lack of measurable improvement in hepatic steatosis [49].

Although animal models are useful for elucidating the potential mechanisms for the development and progression of NAFLD, they cannot confirm the cause and pathophysiology in humans. Difficulties also occur in making extrapolations to humans from results obtained in experimental animals because results vary for different species, strains and gender, and with the specific source of dietary protein. Furthermore, a high-intake of fructose was used in many studies. An effect of fructose intake varies with the dose and with time of exposure. As for many macronutrients, extremely high levels of fructose intake can be toxic. Thus, the results of animals experiments using high dietary amounts of fructose administration over short periods of time can be misleading and should not be extrapolated to infer adverse healthy effects associated with chronic, low-dose consumption by humans [21, 48, 50].

Clinical evidence of fructose consumption in humans with NAFLD

In humans, a short-term fructose overfeeding stimulates DNL and significantly increases intrahepatic fat concentration, without however reaching the proportion encountered in NAFLD. Whether consumption of lower amounts of fructose over prolonged periods may contribute to the pathogenesis of NAFLD has not been convincingly documented in epidemiological studies and remains to be further assessed

[21, 35].

High fructose intake and the increase in diabetes and obesity seem to be the major factors for NAFLD development [51]. Human studies suggest an association between fructose intake and NAFLD [41,52,53]. This association was particularly high in the individuals with more severe liver disease (NASH) who ingested more amounts of carbohydrates (mainly fructose) when compared to healthy subjects [43,54]. Nevertheless, a recent meta-analysis [50] fails to show association between high-intake of fructose and NAFLD; furthermore, a recent cross-sectional study showed an inverse relation between the amount of fructose intake and the frequency of NAFLD development [55]. Table 1 shows the main findings of human studies evaluating fructose intake in NAFLD patients.

Toshimitsu, K. et al., (2007) evaluated dietary habits and intake of nutrients in 46 patients with histological diagnosis of NAFLD. The authors found an excess intake of carbohydrates and energy in patients with NASH compared with patients with steatosis. Among carbohydrates, intake of simple carbohydrates was higher in those with NASH. Study results suggest that imbalanced diets play a role in development and progression of NASH and correction of these diets may be necessary in patients with NASH [54].

Assy, et al., (2008) evaluated the association between soft drink intake and the presence of fat liver disease diagnosed by ultrasonography in 31 patients with NAFLD not associated with classic risk factors (diabetes, obesity, hypercholesterolemia e hypertension) compared to 30 healthy controls [52]. Data on daily dietary intake of food and soft drink, and the source of added sugar were collected during two seven-day periods, at the beginning of the study, and within two weeks after the metabolic tests by using a validated food questionnaire given by a trained dietician. Eighty per cent of patients (25 of 31) consumed an excessive amount of soft drink beverages (more than 50 g/day of added sugar) for 36 months, compared with 20% in healthy controls ($p < 0.001$). Furthermore, patients with DHGNA presented higher levels of aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase, glucoses, insulin e homeostatic model assessment (HOMA-IR) when compared to control group. Besides, soft drink consumption was higher in NAFLD patients [52].

Ouyang et al., (2008) investigated, by dietary history, 49 patients with evidence of biopsy-proven NAFLD without cirrhosis and 24 controls matched for gender, age, and body mass index (± 3 points). Consumption of fructose in patients with NAFLD was nearly

2-to 3-fold higher than controls [365 kcal vs 170 kcal ($p < 0.05$)]. In patients with NAFLD ($n = 6$), hepatic mRNA expression of fructokinase, an important enzyme for fructose metabolism, and fatty acid synthase, an important enzyme for lipogenesis were increased ($p = 0.04$ and $p = 0.02$, respectively) [41].

The association of soft drink consumption with NAFLD with ($n=29$) and without MS ($n=31$) were assessed by Abid et al., and compared to 30 gender- and age-matched individuals without NAFLD [36]. The degree of fatty infiltration was measured by ultrasound. Data on physical activity and intake of food and soft drinks were collected during two 7-day periods over 6 months using a food questionnaire. IR, inflammation, and oxidant-antioxidant markers were measured. Excessive intake of soft drink beverages was found in 80% of patients with NAFLD compared to 17% of healthy controls. The NAFLD group consumed five times more carbohydrates from soft drinks compared to healthy controls (40% vs. 8%, $p<0.001$). Patients with NAFLD with metabolic syndrome had similar malonyldialdehyde, paraoxonase, and C-reactive protein (CRP) levels but higher HOMA- IR and higher ferritin than NAFLD patients without MS. Logistic regression analysis showed that soft drink consumption is a strong predictor of fatty liver (odds ratio: 2.0; $p<0.04$) independent of MS and CRP level. The authors conclude that NAFLD patients display higher soft drink consumption independent of MS diagnosis.

Results of animal experiments suggest that consumption of refined carbohydrates (e.g. fructose) can result in small intestinal bacterial overgrowth, increased intestinal permeability and endotoxin thereby contributing to the development of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) disorder [10,41,56-58]. Furthermore, increased plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 has been linked to liver damage of various etiologies including endotoxin. Thuy et al., developed a pilot study comparing dietary factors, endotoxin, and PAI-1 concentrations between NAFLD patients ($n=12$) and controls ($n=6$). Total energy, fat, protein, and carbohydrate intakes were similar between groups but patients with NAFLD consumed significantly more fructose than controls. Endotoxin and PAI-1 plasma concentrations as well as hepatic TLR4 and PAI-1 mRNA expression of NAFLD patients were significantly higher than in controls. Results suggested a contribution of dietary fructose intake; increased intestinal translocation of bacterial endotoxin, and PAI-1 to the development of NAFLD in humans [57].

A role of an altered dietary pattern (e.g., a diet rich in sugar) and also alterations at

the level of the intestinal barrier in the development and progression of NAFLD were investigated by Volynets et al. [53]. Ten controls and 20 patients with NAFLD ranging from simple steatosis to steatohepatitis were included in the study. Bacterial overgrowth, orocecal transit time, and intestinal permeability were assessed. Alcohol, endotoxin, and plasminogen activator inhibitor (PAI-) 1 concentration were determined in plasma. Nutritional intake was assessed using a dietary history. The authors found a significant higher intake of protein, total carbohydrates, and mono- as well as disaccharides in patients with NAFLD than controls. PAI-1, endotoxin, and alanine aminotransferase (ALT) plasma levels were positively related to total protein and carbohydrate intake. The results also indicate that intestinal permeability, endogenous alcohol synthesis, and nutritional intake are markedly altered in patients with NAFLD [53]. One year later, the same group of authors observed that the reduction of fructose intake (reduction of 50% in comparison with baseline) during six months was associated with a decrease in hepatic lipid content, BMI, fasting plasma insulin concentrations, and serum levels of the aminotransferases, endotoxin and PAI-1 [59]. Corroborating the association between fructose and steatosis, Walker et al., investigated in a group of 37 obese young adults the presence of fructose malabsorption, assessed by hydrogen breath test, and correlated it with the grade of steatosis measured by magnetic resonance imaging [60]. The patients exhibited high consumption of fructose-containing beverages. The authors observed a negative correlation between fructose malabsorption and grade of steatosis, suggesting that fructose malabsorption might be protective against fatty liver disease [60].

Jim et al. performed a 2-d, crossover feeding study including 9 children with NAFLD and 10 matched controls without NAFLD [61]. They assessed plasma lipid levels over two nonconsecutive, randomly assigned, 24-h periods under isocaloric, isonitrogenous conditions with three macronutrient-balanced, consecutive meals and either: 1) a fructose-sweetened beverage (FB); or 2) a glucose beverage (GB) being consumed with each meal. Differences in plasma glucose, insulin, TG, apolipoprotein B, high-density lipoprotein cholesterol, and nonesterified free fatty acid levels were assessed using mixed models and 24-h incremental areas under the time-concentration curve. After FB, triglyceride incremental area under the curve was higher vs. after GB both in children with NAFLD ($p = 0.011$) and those without NAFLD ($p = 0.027$); however, incremental response to FB was greater in children with NAFLD than those without NAFLD ($p = 0.019$). For all subjects,

high-density lipoprotein cholesterol declined in the postprandial and overnight hours with FB, but not with GB ($p = 0.0006$). Nonesterified fatty acids were not impacted by sugar but were significantly higher in NAFLD. The dyslipidemic effect of dietary fructose occurred in both healthy children and those with NAFLD; however, children with NAFLD demonstrated increased sensitivity to the impact of dietary fructose [61].

Vos et al., conducted a cross-sectional registry based study evaluating demographic, anthropometric, clinical, laboratory and histology data, including the Block Brief Food Questionnaire from 149 children enrolled in the multi-center prospective NASH Clinical Research Network. They found no significant differences between children with steatosis compared to steatohepatitis for fraction of calories from fat, carbohydrates, and protein. Sugar sweetened beverage consumption was low and did not correlate with histologic features, although uric acid, a surrogate marker for fructose intake, was significantly increased in those with definite NASH ($p = .008$). Vitamin E consumption was insufficient compared to the recommended daily allowance for all groups and median consumption of vitamin E was lower in children with higher grade of steatosis [63].

A recent systematic review and meta-analysis evaluate fructose, high-fructose corn syrup, sucrose, and nonalcoholic fatty liver disease or indexes of liver health included 6 observational studies and 21 intervention studies (19 in healthy subjects). On the basis of indirect comparisons across study findings, the apparent association between indexes of liver health (ie, liver fat, hepatic de novo lipogenesis, alanine aminotransferase, AST, and g-glutamyltranspeptase) and fructose or sucrose intake appear to be confounded by excessive energy intake. The authors concluded that the evidence evaluated was not sufficiently robust to draw conclusions regarding effects of fructose, HFCS, or sucrose consumption on NAFLD [50]. Even though the authors had evaluated all study designs and all sources and forms of fructose intake in relation to liver health, limitations of conclusions are primarily inherited from poor-quality and heterogeneous studies included in the systematic review. In addition, most of the data were only available in healthy men, which limited the generalizability of the findings.

Abdelmalek et al. studied 427 adults with NAFLD enrolled in the NASH Clinical Research Network for whom Block food questionnaire data were collected within 3 months of a liver biopsy. Study was conducted to investigate the relationship between fructose consumption and disease severity in NAFLD. Fructose consumption was

estimated based on reporting (frequency x amount) of Kool-aid, fruit juices, and nondietary soda intake, expressed as servings per week, and classified into none, minimum to moderate (<7 servings/week), and daily (> or =7 servings/week). Increased fructose consumption was univariately associated with decreased age, male sex, hypertriglyceridemia, low high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, decreased serum glucose, increased calorie intake, and hyperuricemia. The association of fructose intake with metabolic and histological features of NAFLD was analyzed using multiple linear and ordinal logistic regression analyses with and without controlling for other confounding factors. Interestingly, daily fructose ingestion (> or =7 servings/week) was associated with reduced hepatic steatosis but increased fibrosis [43].

Recent data from a large cross-sectional study from Finland shows conflicting results regarding the role of fructose in NAFLD. The authors examined the association between fructose intake and NAFLD by using the Fatty Liver Index (FLI) and the NAFLD liver fat score [62]. Nutritional, clinical and laboratorial parameters were also evaluated. Using validated and standardized 131-item food-frequency questionnaires habitual fructose and other dietary intake were assessed. In a model adjusted for age, sex, and energy intake, participants in the highest fructose intake quartile had lower risk of NAFLD assessed by using the FLI and NAFLD liver fat score than that of the lowest intake quartile. Study results, in disagreement with earlier studies, did not support the current hypothesis that high intake of fructose is associated with a higher prevalence of NAFLD as assessed by using the FLI and NAFLD liver fat score [55].

Conclusions

The data described here support that the notion that the consumption of carbohydrates, particularly sugars additives high in fructose, appears to be at least one very important contributing factor in NAFLD pathogenesis.

Even though growing evidence suggests that fructose contributes to the development and severity of NAFLD, available evidence is not sufficiently robust to draw conclusions regarding effects of fructose, HFCS, or sucrose consumption on NAFLD. Further studies to assess the impact of high-fructose intake as well as other sugars in humans with NAFLD and NASH are warranted.

Acknowledgments

This work was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Table 1.Summary of clinical trials evaluating fructose consumption in humans with NAFLD

Study	Hepatic Disorder and Sample Size	Variables	Results
Kanerva et al., (2014) (55)	N=1611, diagnosed NAFLD by the algorithm Fatty Liver Index (FLI) and 511 by the NAFLD Fat Liver Score	663 with the NAFLD, food frequency questionnaire, anthropometry, factors of MS	Algorithm for definition of food intake (range: 29.2-88.0 g/d) had smaller waist circumference values and lower risk of NAFLD assessed by using the FLI and NAFLD liver fat score. Association persisted after model adjusted for lifestyle and variables related to food consumption.
Volynets et al.,(2012) (53)	20 NAFLD by ultrasonography (3 NASH) vs. 10 healthy controls	Food frequency questionnaire	NAFLD group had increased consumption of protein carbohydrates, sucrose, fructose and glucose. PAI-1, endotoxin, and ALT plasma levels were positively related to total protein and carbohydrate intake.
Abdelmalek et al., (2013) (43)	427 with biopsy proven NAFLD	Food frequency questionnaire, liver biopsy, biochemical tests	Group with daily consumption of industrialized beverages had higher triglyceride levels, fasting plasma glucose, total calories, proteins, carbohydrates and lipids compared to those who consumed moderately. Model adjusted for sex, age,

				BMI and total caloric intake showed that daily consumption of industrialized beverages was associated with a decrease in the degree of steatosis (OR = 0.4, CI 0.4-0.9; p = 0.02) and an increase in the degree of fibrosis (OR = 2.6, CI 1.4- 5; p = 0.004).
Abid et al., (2009) (36)	31 NAFLD with risk factors for metabolic syndrome (DM, obesity and hypertriglyceridemia), 29 NAFLD without risk factors for metabolic syndrome and 30 controls	Food record, HFCS consumption, ultrasound, HOMA, triglycerides		NAFLD with MS: increased HOMA (8.3 ± 8 vs. 3.7 ± 3.7 vs. 1.7 ± 0.5 ; p = 0.001) and triglycerides (208 ± 69 vs. 142 ± 64 vs. 108 ± 34 ; p = 0.001). Logistic regression demonstrated a strong association between consumption of industrialized beverages and hepatic fat (OR = 2; CI 95% = 1-5 p = 0.03).
Ouyang et al., (2008) (41)	49 NAFLD vs. 24 controls	Consumption on HFCS, triglycerides, cholesterol, uric acid,		NAFLD group: increased consumption of HFCS ($365\text{kcal} / \text{day}$ vs. $190\text{kcal} / \text{day}$, p <0.05) and higher triglycerides, cholesterol and uric acid. Expression of fructokinase enzymes and fatty acid synthase were increased in NAFLD compared to

			fructokinase, fattyacidsynthase	samples from controls without steatosis.
Assy et al., (2008) (52)	31 NAFLD without classic risk factors of the disease (DM, obesity, dyslipidemia and hypertension) and 30 controls	Food record, ultrasound		NAFLD group: increased consumption of industrialized beverages compared to controls (80% vs. 20%, $p = 0.001$); higher consumption of added sugar in g/day (75.6 ± 8.4 vs. 33.6 ± 12.6 ; $p = 0.001$. Correlation between consumption of processed drinks and fatty liver infiltrate ($r = 0.63$; $p < 0.01$).
Toshimitsu et al., (2007) (54)	28 NASH vs. 18 steatosis	Three diet recalls		NASH group: increased consumption of carbohydrates (20-39 ys and 40-59 ys) compared to simple steatosis (56 ± 9 vs. 47 ± 13 , $p < 0.05$) (58 ± 9 vs. 49 ± 12 , $p < 0.05$).
Thuy et al., (2008) (57)	12 nondiabetic NAFLD and 6 healthy controls	Diet, endotoxin, TLR4, PAI-1 plasma and liver		NAFLD group: higher consumption of fructose ($p < 0.05$; plasma levels of endotoxin ($p < 0.05$), PAI-1 ($p < 0.05$), hepatic TLR4 ($p < 0.05$) and PAI-1 mRNA expression ($p < 0.05$). PAI-1 concentrations correlated with endotoxin levels and with hepatic TLR4 mRNA expression. Hepatic mRNA expression of PAI-1 correlated with dietary intakes

of carbohydrates, fructose, glucose and sucrose			
Vos et al., (2012) (63)	149 children (110 boys, 79 girls) biopsy proven NAFLD	Sugar sweetened beverage per week, food	Sugar sweetened beverage consumption was low without correlation with histology hepatic. Uric acid was increased in NASH group (p=0.008). Median consumption of vitamin E was lower in children with higher grade of steatosis.
		questionnaire, demographic, anthropometric, clinical, laboratory and histology data	
Jin et al., (2012) (61)	9 NAFLD (7 NASH, 1 steatosis, 2 NASH with fibrosis) and 10 controls without NAFLD	Intervention:	
		balanced meal added to 1) a sweetened beverage with fructose (FB); or 2) a drink sweetened with glucose (GB).	NAFLD group: increase in triglycerides after FB compared to GB both NAFLD and control groups. For all subjects, high-density lipoprotein cholesterol declined in the postprandial and overnight hours with FB, but not with GB (p=0.0006). Non sterified fatty acids were significantly higher in NAFLD.

NAFLD: nonalcoholic fat liver disease; NASH: nonalcoholic steatohepatitis; DM: diabetes mellitus;

HFCS: high fructose corn syrup, PAI-1: plasminogen activator inhibitor 1; TLR4: Toll-like receptor 4.

References

1. 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;55:2005-2023.
2. Levene AP, Goldin RD. The epidemiology, pathogenesis and histopathology of fatty liver disease. *Histopathology* 2012;61:141-152.
3. Ferolla SM, Abreu Ferrari TC, Pereira Lima ML, Reis TO, Tavares- WC, Jr., Melo Couto OF, Texeira Vidigal PV, et al. Dietary patterns in Brazilian patients with non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *Clinics* 2013;68:11-17.
4. Bhala NJ, R.I.K.; Bugianesi, E. . Epidemiology and Natural History of Patients with NAFLD. *Current Pharmaceutical Design* 2013;9:5169-5176.
5. Corey KE, Kaplan LM. Obesity and liver disease: the epidemic of the twenty-first century. *Clin Liver Dis* 2014;18:1-18.
6. Yilmaz Y, Younossi ZM. Obesity-Associated Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinics in Liver Disease* 2014;18:19-31.
7. Lazo M, Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective. *Semin Liver Dis* 2008;28:339-350.
8. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:274-285.
9. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, Ahmed A. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology* 2015;148:547-555.
10. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;56:1761-1772.
11. Leite NC, Salles GF, Araujo AL, Villela-Nogueira CA, Cardoso CR. Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus. *Liver Int* 2009;29:113-119.
12. Leite NC, Villela-Nogueira CA, Pannain VL, Bottino AC, Rezende GF, Cardoso CR, Salles GF. Histopathological stages of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes: prevalences and correlated factors. *Liver Int* 2011;31:700-706.
13. Marriott BP, Cole N, Lee E. National estimates of dietary fructose intake increased from 1977 to 2004 in the United States. *J Nutr* 2009;139:1228S-1235S.
14. Welsh JA, Sharma AJ, Grellinger L, Vos MB. Consumption of added sugars is decreasing in the United States. *Am J Clin Nutr* 2011;94:726-734.
15. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab (Lond)* 2005;2:5.
16. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr* 2004;79:537-543.
17. Vos MB, Kimmons JE, Gillespie C, Welsh J, Blanck HM. Dietary Fructose Consumption Among US Children and Adults- The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape Journal of Medicine* 2008;10.
18. Gross LS, Li L, Ford ES, Liu S. Increased consumption of refined carbohydrates

and the epidemic of type 2 diabetes in the United States: an ecologic assessment. *Am J Clin Nutr* 2004;79:774-779.

19. Greenwood DC, Threapleton DE, Evans CE, Cleghorn CL, Nykjaer C, Woodhead C, Burley VJ. Association between sugar-sweetened and artificially sweetened soft drinks and type 2 diabetes: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Br J Nutr* 2014;112:725-734.

20. Ferder L, Ferder MD, Insera F. The role of high-fructose corn syrup in metabolic syndrome and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2010;12:105-112.

21. Tappy L, Le KA, Tran C, Paquot N. Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. *Nutrition* 2010;26:1044-1049.

22. Day CP. Pathogenesis of steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002;16:663-678.

23. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001;120:1183-1192.

24. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, et al. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology* 2002;35:373-379.

25. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Senturk H. From fatty liver to fibrosis: a tale of "second hit". *World J Gastroenterol* 2013;19:1158-1165.

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

27. Gaby AR. Adverse effects of dietary fructose. *Alternative Medicine Review* 2005;10:294-306.

28. Aeberli I, Hochuli M, Gerber PA, Sze L, Murer SB, Tappy L, Spinass GA, et al. Moderate amounts of fructose consumption impair insulin sensitivity in healthy young men: a randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2013;36:150-156.

29. Ferolla SM, Armiliato GN, Couto CA, Ferrari TC. The role of intestinal bacteria overgrowth in obesity-related nonalcoholic fatty liver disease. *Nutrients* 2014;6:5583-5599.

30. Duseja A, Chawla YK. Obesity and NAFLD: the role of bacteria and microbiota. *Clin Liver Dis* 2014;18:59-71.

31. Vasselli JR. Fructose-induced leptin resistance: discovery of an unsuspected form of the phenomenon and its significance. Focus on "Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high-fat feeding," by Shapiro et al. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;295:R1365-1369.

32. Cirillo P, Sautin YY, Kanellis J, Kang DH, Gesualdo L, Nakagawa T, Johnson RJ. Systemic inflammation, metabolic syndrome and progressive renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1384-1387.

33. Glushakova O, Kosugi T, Roncal C, Mu W, Heinig M, Cirillo P, Sanchez-Lozada LG, et al. Fructose induces the inflammatory molecule ICAM-1 in endothelial cells. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:1712-1720.

34. Bergheim I, Weber S, Vos M, Kramer S, Volynets V, Kaserouni S, McClain CJ, et al. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol* 2008;48:983-992.

35. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sabuncu T, Senturk H. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2013;19:1166-1172.

36. Abid A, Taha O, Nseir W, Farah R, Grosovski M, Assy N. Soft drink

consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol* 2009;51:918-924.

37. Ha V, Jayalath VH, Cozma AI, Mirrahimi A, de Souza RJ, Sievenpiper JL. Fructose-containing sugars, blood pressure, and cardiometabolic risk: a critical review. *Curr Hypertens Rep* 2013;15:281-297.

38. Lecoultre V, Egli L, Carrel G, Theytaz F, Kreis R, Schneiter P, Boss A, et al. Effects of fructose and glucose overfeeding on hepatic insulin sensitivity and intrahepatic lipids in healthy humans. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21:782-785.

39. Tappy L, Le KA. Does fructose consumption contribute to non-alcoholic fatty liver disease? *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012;36:554-560.

40. Neuschwander-Tetri BA, Ford DA, Acharya S, Gilkey G, Basaranoglu M, Tetri LH, Brunt EM. Dietary trans-fatty acid induced NASH is normalized following loss of trans-fatty acids from hepatic lipid pools. *Lipids* 2012;47:941-950.

41. Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM, Johnson RJ, et al. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2008;48:993-999.

42. Silbernagel G, Machann J, Unmuth S, Schick F, Stefan N, Haring HU, Fritsche A. Effects of 4-week very-high-fructose/glucose diets on insulin sensitivity, visceral fat and intrahepatic lipids: an exploratory trial. *Br J Nutr* 2011;106:79-86.

43. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, Diehl AM, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010;51:1961-1971.

44. Calafell R, Boada J, Santidrian AF, Gil J, Roig T, Perales JC, Bermudez J. Fructose 1,6-bisphosphate reduced TNF-alpha-induced apoptosis in galactosamine sensitized rat hepatocytes through activation of nitric oxide and cGMP production. *Eur J Pharmacol* 2009;610:128-133.

45. Light HR, Tsanzi E, Gigliotti J, Morgan K, Tou JC. The type of caloric sweetener added to water influences weight gain, fat mass, and reproduction in growing Sprague-Dawley female rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2009;234:651-661.

46. Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: considerations for future research on its effects on adipose distribution, lipid metabolism, and insulin sensitivity in humans. *J Nutr* 2009;139:1236S-1241S.

47. Le KA, Faeh D, Stettler R, Ith M, Kreis R, Vermathen P, Boesch C, et al. A 4-wk high-fructose diet alters lipid metabolism without affecting insulin sensitivity or ectopic lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr* 2006;84:1374-1379.

48. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010;7:251-264.

49. Jin R, Welsh JA, Le NA, Holzberg J, Sharma P, Martin DR, Vos MB. Dietary fructose reduction improves markers of cardiovascular disease risk in Hispanic-American adolescents with NAFLD. *Nutrients* 2014;6:3187-3201.

50. Chung M, Ma J, Patel K, Berger S, Lau J, Lichtenstein AH. Fructose, high-fructose corn syrup, sucrose, and nonalcoholic fatty liver disease or indexes of liver health: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2014;100:833-849.

51. Spruss A, Bergheim I. Dietary fructose and intestinal barrier: potential risk factor in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem* 2009;20:657-662.

52. Assy N, Nasser G, Kamayse I, Nseir W, Beniashvili Z, Djibre A, Grosovski M.

Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors. *Canadian Journal of Gastroenterology* 2008;22.

53. Volynets V, Kuper MA, Strahl S, Maier IB, Spruss A, Wagnerberger S, Konigsrainer A, et al. Nutrition, intestinal permeability, and blood ethanol levels are altered in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci* 2012;57:1932-1941.

54. Toshimitsu K, Matsuura B, Ohkubo I, Niiya T, Furukawa S, Hiasa Y, Kawamura M, et al. Dietary habits and nutrient intake in non-alcoholic steatohepatitis. *Nutrition* 2007;23:46-52.

55. Kanerva N, Sandboge S, Kaartinen NE, Mannisto S, Eriksson JG. Higher fructose intake is inversely associated with risk of nonalcoholic fatty liver disease in older Finnish adults. *Am J Clin Nutr* 2014;100:1133-1138.

56. Bergheim I, Guo L, Davis MA, Duveau I, Arteel GE. Critical role of plasminogen activator inhibitor-1 in cholestatic liver injury and fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;316:592-600.

57. Thuy S, Ladurner R, Volynets V, Wagner S, Strahl S, Konigsrainer A, Maier KP, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *The Journal of Nutrition* 2008;138:1452-1455.

58. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, Faga E, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003;37:909-916.

59. Volynets V, Machann J, Kuper MA, Maier IB, Spruss A, Konigsrainer A, Bischoff SC, et al. A moderate weight reduction through dietary intervention decreases hepatic fat content in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a pilot study. *Eur J Nutr* 2013;52:527-535.

60. Walker RW, Le KA, Davis J, Alderete TL, Cherry R, Lebel S, Goran MI. High rates of fructose malabsorption are associated with reduced liver fat in obese African Americans. *J Am Coll Nutr* 2012;31:369-374.

61. Jin R, Le NA, Liu S, Farkas Epperson M, Ziegler TR, Welsh JA, Jones DP, et al. Children with NAFLD are more sensitive to the adverse metabolic effects of fructose beverages than children without NAFLD. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:E1088-1098.

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

63. Vos MB, Colvin R, Belt P, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, Schwimmer JB, et al. Correlation of vitamin E, uric acid, and diet composition with histologic features of pediatric NAFLD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:90-96.

Anexo A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estudo: Resposta ao uso de simbiótico sobre a permeabilidade intestinal,
supercrescimento bacteriano e grau de esteatose na doença hepática gordurosa não-
alcoólica

Investigadores: Nutricionista Silvia Marinho Ferolla Costa e
Profa. Teresa Cristina Abreu Ferrari

Prezado (a) paciente,

Sr (a) _____

Você está sendo convidado (a) a participar de um ensaio terapêutico, que tem como objetivo investigar o efeito de simbiótico sobre a doença hepática gordurosa não-alcoólica. Não existe atualmente, nenhum remédio para tratar a doença hepática gordurosa não-alcoólica. Essa doença é caracterizada pelo acúmulo da gordura no fígado, que se não for tratada, pode trazer, em alguns casos, sérias conseqüências para a pessoa tais como cirrose hepática e câncer de fígado.

Simbióticos são microorganismos vivos, não causadores de doenças e que quando consumidos em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde da pessoa: protege o intestino contra bactérias ruins, melhora a função de defesa do organismo e diminui a inflamação. Esses microorganismos podem estar presentes em alguns iogurtes e leite fermentados. Porém, o simbiótico que será usado neste estudo é um produto que já é comercializado e sua apresentação é em pó, sem cheiro e com sabor neutro podendo ser adicionado a líquidos ou alimentos. Esse produto é aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária e pela Organização Mundial de Saúde. O probiótico tem sido usado de maneira rotineira no tratamento de algumas doenças de intestino.

Em outros países, já foram desenvolvidos estudos testando a ação de probióticos na diminuição da gordura e da inflamação no fígado. Entretanto, para comprovar realmente a ação benéfica do probiótico são necessários estudos com maior número de pacientes e com melhor acompanhamento do fígado e dos exames de sangue. Os riscos do uso de probióticos para a saúde de uma pessoa são mínimos (formação de gases e alteração das

evacuações). Não deve ser utilizado em pessoas que tem o sistema de defesa muito debilitado como em algumas doenças como Aids e câncer, por exemplo, ou em crianças. No entanto, em nosso estudo, não avaliaremos este grupos de pessoas.

Para avaliar o efeito do simbiótico sobre sua doença (gordura no fígado) será necessária a realização de alguns exames antes de iniciar o uso do simbiótico e ao término do tratamento, a fim de comparar a situação de seu fígado e outros exames relacionados à doença hepática gordurosa não-alcoólica. Os exames que você fará são os seguintes:

1- Estudo (exame) da permeabilidade intestinal

O que é o estudo da permeabilidade intestinal?

O intestino tem uma função importante além da digestão e absorção de nutrientes que é de atuar como barreira ou proteção à entrada de moléculas grandes (macromoléculas) ou compostos tóxicos ao organismo. Este exame avalia se o seu intestino está conseguindo fazer a sua função de barreira adequadamente, ou seja, de não permitir que moléculas ou substâncias indesejáveis passem através do seu intestino para a corrente sanguínea. Quando isso acontece, dizemos que o indivíduo apresenta permeabilidade intestinal aumentada.

Para fazer o exame você deverá comparecer pela manhã ao hospital em jejum (10 horas sem comer, ou seja, não comer e nem beber nada após o jantar da noite anterior). Ao ser atendido, você deverá urinar (essa urina será coletada) e em seguida tomar um líquido com açúcares (lactulose e manitol). A partir desse momento, sua urina será coletada durante as seis próximas horas – tempo de duração do exame. O exame é indolor (não causa dor) e não causa nenhum risco para a sua saúde.

Por que devo fazer este exame?

Até hoje não se sabe exatamente por que algumas pessoas acumulam gordura no fígado e, por que em alguns casos a doença pode agravar causando cirrose ou até mesmo câncer do fígado. Algumas pesquisas têm mostrado que alterações na permeabilidade e na flora intestinal (conjunto de bactérias que vivem no nosso intestino) podem permitir a passagem de bactérias patogênicas que moram no intestino e substâncias produzidas por ela para o fígado, favorecendo a inflamação deste órgão. Além disso, as bactérias do intestino podem digerir alimentos que nós humanos não somos capazes de digerir, aumentando a extração de calorias da dieta, favorecendo, consequentemente, o ganho de peso e o acúmulo de gordura no fígado.

O que causa alteração da permeabilidade intestinal e da flora intestinal?

Essas alterações podem acontecer devido a estresse, má alimentação (comer muito açúcar, doce e gordura), presença de doenças crônicas (obesidade, diabetes, etc), uso de antibióticos e presença de doenças intestinais (doença celíaca, por exemplo).

2- Teste respiratório do hidrogênio expirado para avaliação desupercrecimento bacteriano

Para que serve este exame?

Esse exame avalia se tem grande crescimento de bactérias no seu intestino.

Como é feito este exame?

No dia anterior ao teste você não poderá ingerir alimentos que produzem muitos gases como feijão, folhas cruas, repolho, brócolis, couve-flor, soja, e outros. Ficará em jejum na noite anterior por 12 horas. Pela manhã, no hospital, você deverá ingerir 20 gramas de lactulose xarope (líquido com açúcar). Durante um período de 2 horas, a cada 20 minutos você vai soprar e um equipamento coletará amostras do ar expirado.

Esse exame é doloroso ou apresenta algum risco a minha saúde?

Não, o exame não provoca dor; em apenas alguns casos a ingestão de líquido com lactulose ou manitol pode provocar gases, desconforto ou cólica e diarreia.

3- Dosagem de lipopolissacáride

Para que serve este exame?

Essa dosagem é necessária para identificar se existe uma substância (lipopolissacáride) produzida por bactérias no seu sangue.

Como é feito este exame?

É necessário colher uma amostra de seu sangue em uma veia de seu braço.

Existe risco relacionado a este exame?

O risco desse exame é mínimo, mas, em alguns casos, podem ocorrer dor e hematoma (ficar roxo) no local onde colheu o sangue.

4- Ressonância magnética

O que é este exame?

A ressonância magnética é um exame moderno que não usa radiação, além de não causar qualquer desconforto ou dor ao paciente. Este exame é melhor do que a ultrassonografia para avaliar a quantidade de gordura acumulada no fígado.

Como é feito este exame?

Você deverá permanecer imóvel durante todo o exame que tem duração de 5 minutos.

Existe alguma contra-indicação para realizar este exame?

Sim, pessoas que usam marca-passo ou que estão grávidas não poderão fazer este exame. Para descobrir se você apresenta alguma contra-indicação para a realização deste exame você deverá responder a um questionário específico. Não haverá administração de contraste para a realização do exame necessário à pesquisa.

Caso eu aceite participar do estudo, como será feito meu acompanhamento e como devo proceder?

Se você concordar em participar em participar deste estudo, você irá receber 60 sachês de simbióticos, que deverá ser ingerido diariamente duas vezes ao dia, diluído em sucos ou água fria ou temperatura ambiente. Você deverá comparecer ao consultório da nutricionista do estudo no Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não-Alcólica uma vez ao mês durante 03 meses. Nesta consulta, você será pesado, medido e será avaliado por um aparelho chamado de bioimpedância que avalia a quantidade de gordura corporal. Esse exame não causa desconforto e nem dor e dura aproximadamente um minuto. A contra-indicação é estar grávida ou usar marcapasso. A cada consulta você receberá 60 sachês de simbiótico para o tratamento do mês.

Sua participação nesse estudo é voluntária, ou seja, você participa dessa pesquisa se for da sua vontade. Se você assinar este termo, significa que você concorda com a utilização destes dados para esta pesquisa. Você pode recusar a participar do estudo sem que isto cause prejuízo no seu acompanhamento.

Caso eu não deseje mais continuar no estudo, haverá algum prejuízo no meu tratamento?

Você pode mudar de opinião a qualquer momento e isso de modo algum afetará o seu tratamento no ambulatório. Se resolver deixar o estudo, você precisa avisar a nutricionista da pesquisa ou alguém da equipe do ambulatório.

O que acontecerá com os dados de meus exames?

Os resultados do estudo serão colocados no computador para facilitar a análise e podem ser divulgados em revistas médicas. Seu nome não será divulgado em momento algum. As únicas pessoas que terão acesso aos seus dados serão as nutricionistas e a equipe médica deste ambulatório.

Você não terá nenhum custo por participar desse estudo. Todos os exames serão pagos por meio de patrocínio. Não haverá qualquer tipo de pagamento ou recompensa individual para a participação neste estudo.

Para qualquer esclarecimento, por favor, entre em contato com a Nutricionista Silvia Marinho Ferolla Costa ou com a Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari, no Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica, todas as terças – feiras de 08:00 h às 11:00 h. Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG para informações sobre o projeto.

Endereço do Ambulatório de Fígado: Ambulatório Bias Fortes. Alameda Álvaro Celso, 117, 5º andar. Bairro Santa Efigênia, BH – MG.

Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP): Av. Presidente Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II – 2º andar sala 2005 – BH – MG

Tel: 3499 4592 email: coep@prpq.ufmg.br

Eu, _____, após ser esclarecido sobre o projeto de pesquisa, concordo em participar do estudo acima.

Nutr. Silvia Marinho Ferolla Costa CRN9-1821

Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari CRMMG 15083

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Anexo B- Protocolo de Atendimento

PROTOCOLO ATENDIMENTO Data: / /	
Responsável pelo atendimento inicial: _____	
Nome: _____	
Registro: _____	
Se DM marcar ()	
● CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E SOCIECONÔMICAS	
Cor: (1) Branco (2) Parda-moreno (3) Negro (2) Amarela (4) Indígena	
Sexo: (1) M (2) F	
Data de Nascimento: / /	Idade:
Endereço: _____	
Telefone: _____	
Estilo de vida: Atividade física: (0) não (1) sim Tipo: (1) aeróbica (2) anaeróbica Duração: _____ minutos Frequência: _____ vezes na semana Atividade física na profissão: (0) não (1) sim Qual? _____	
História pregressa Transfusão de sangue: (0) não (1) sim	
Etilismo: (0) não (1) sim (2) interrompido: Há quanto tempo? _____ anos Duração: Tipo de bebida: Média semanal: Cálculo da quantidade: (1) > 2 doses/semana (2) > 3 doses// semana 1 dose= 14g de etanol	
Exposição a petroquímicos: (0) não (1) sim (98) não sabe (99) não se aplica Duração: _____ anos Tempo de afastamento: _____ anos *Trabalhou com solventes, tintas, gasolina, indústria, manipulação direta de petroquímicos	
Drogas ilícitas: (0) não (1) sim (98) não sabe (99) não se aplica Quais: _____	

Tempo de uso: _____			
História atual			
Medicações	<i>Tempo de uso</i>	<i>Apresentação e dosagem</i>	Esquema (MID, BID, TID)

Anamnese especial
OBS: Apresenta alteração relacionada ao TGI com início há pelo menos 6 meses e presentes nos últimos 3 meses:

Esôfago
Pirose (sensação de queimação retroesternal subindo) (0) não (1) sim
Dor torácica (não em queimação) (0) não (1) sim
Disfagia (dificuldade para engolir) (0) não (1) sim
Globus (bolo/nó na garganta) (0) não (1) sim

Estômago e duodeno
Desconforto pós-prandial (0) não (1) sim
Dor epigástrica (região do abdome acima do umbigo) (0) não (1) sim
Aerofagia (engole ar ao falar ou comer) (0) não (1) sim
Eructação excessiva (0) não (1) sim
Náusea (várias vezes por semana) (0) não (1) sim
Vômitos (1 ou mais por semana) (0) não (1) sim
Ruminação (retorno do alimento engolido à boca, mastiga e engole novamente) (0) não (1) sim

Intestino
Dor ou desconforto abdominal (0) não (1) sim
Distensão abdominal (sensação) (0) não (1) sim
Constipação (ao menos 2 dos seguintes: menos que 3 evacuações/semana; esforço(ao menos 25% das evacuações), fezes duras (25%), sensação de evacuação incompleta (25%), sensação de obstrução anorretal (25%), manobras manuais para facilitar (25%)) (0) não (1) sim
Diarréia (0) não (1) sim
Outro sintoma intestinal inespecífico (diferente dos acima) (0) não (1) sim

Vesícula Biliar e Esfíncter de Oddi
Dor no hipocôndrio direito (dias alternados, dura 30 min ou mais, não alivia com antiácidos, independe da postura) (0) não (1) sim

Anorretais

Incontinência fecal (0) não (1) sim

Dor anorretal (20 min ou mais) (0) não (1) sim

Antropometria:

Peso atual: _____

Altura: _____

Peso habitual: _____

Circunferência da cintura: _____

IMC: _____

Peso magro: _____ % de massa muscular: _____

Peso gordo: _____ % de gordura corporal: _____

Exame físico:

Edema de mmii: (0) não (1) sim

Ascite: (0) não (1) sim

Diagnóstico() DHGNA sem indicação de BX – provável esteatose pura () DHGNA com
indicação de bx () F0-F1 () F2-F4**Comorbidades associadas:**

Obesidade: (0) não (1) sim Hipercolesterolemia: (0) não (1) sim

Hipertrigliceridemia: (0) não (1) sim Hipertensão: (0) não (1) sim

DCV: (0) não (1) sim Intolerância à glicose: (0) não (1) sim

Diabetes: (0) não (1) sim Hepatocarcinoma: (0) não (1) sim

Cirrose: (0) não (1) sim

Observações:Obesidade: IMC > 29,9kg/m² ou CC: H ≥ 90 e M ≥ 80cm

Hipertrigliceridemia (≥ 150mg/dL ou em tratamento para triglicérides elevado)

Hiperglicemia jejum (≥ 100mg/dL ou em uso de medicamento para hiperglicemia)

Hipertensão (≥ 130/85 ou em uso de medicamento para hipertensão)

HDL (H < 40mg/dL e M < 50mg/dL)

DCV (AVE, IAM, Angina)

EXAMES – Avaliação inicial

<u>Exames</u>	<u>Data 1 – valor</u>	<u>Data 2 - valor</u>	<u>Data 3 - valor</u>
Celuloplasmina			
Alfa-1-antitripsina			
FAN			
Anti músculo liso			

Anti HCV			
AntiHBs			
AntiHBc			
Anti HVA			
HBsAg			
Eletroforese de proteínas			
Índice de saturação de transferrina			
Ferritina			
Glicemia de jejum			
Insulina de jejum			
HOMA			
Glicohemoglobina			
TGO			
TGP			
FA			
Gama-GT			
Colesterol total			
HDL			
LDL			
VLDL			
Triglicerídeos			
Ferro			
Albumina			
Vitamina B12			
TSH			
T4 livre			
Ácido úrico			
Plaquetas			
Hemoglobina			
Hematócrito			
Leucócitos totais			
Potássio			
BT			
BD/BI			
Índ. Sat. Transferrina			

	Creatinina			
	Vitamina D3			
	TP* /refrepetir somente se F3-F4			
	PTT* /refrepetir somente se F3-F4			
	RNI*repetir somente se F3-F4			
	Atividade*/refrepetir somente se F3-F4			
DATA	OUTROS EXAMES	LAUDO		
	BX			

Ambulatório de DHGNA

$\bar{u} = 0.1$	$\bar{u} = 0.2$	$\bar{u} = 0.4$	$\bar{u} = 0.6$
-----------------	-----------------	-----------------	-----------------

Anexo D- Carta de aprovação do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

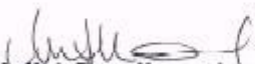
Projeto: CAAE – 01699512.1.0000.5149

Interessado(a): Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 31 de julho de 2012, o projeto de pesquisa intitulado **"Resposta ao uso de probiótico sobre a permeabilidade intestinal, supercrescimento bacteriano e grau de esteatose na doença hepática gordurosa não-alcoólica"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Prof.ª Maria Tereza Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG