

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Patologia

Túlio de Paula Vasconcelos

**AVALIAÇÃO DOS DIFERENTES GRAUS DE FIBROSE NA
ESTEATOHEPATITE NÃO-ALCOÓLICA POR MÉTODOS
SEMIQUANTITATIVOS, QUANTITATIVO, ELASTOGRÁFICO E
ESCORES PREDITORES DE FIBROSE NÃO INVASIVOS**

Belo Horizonte
2023

Túlio de Paula Vasconcelos

AVALIAÇÃO DOS DIFERENTES GRAUS DE FIBROSE NA ESTEATOHEPATITE NÃO-ALCOÓLICA POR MÉTODOS SEMIQUANTITATIVOS, QUANTITATIVO, ELASTOGRÁFICO E ESCORES PREDITORES DE FIBROSE NÃO INVASIVOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Área de concentração: Patologia oncológica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Paula Teixeira Vieira Vidigal.

Belo Horizonte
2023

043

Vasconcelos, Túlio de Paula.

Avaliação dos diferentes graus de fibrose na esteatohepatite não-alcoólica por métodos semiquantitativos, quantitativo, elastográfico e escores preditores de fibrose não invasivos [manuscrito] / Túlio de Paula Vasconcelos. – 2023.
83 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Paula Teixeira Vieira Vidigal.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia.

1. Patologia. 2. Hepatopatia Gordurosa não Alcoólica. 3. Cirrose Hepática. I. Vidigal, Paula Teixeira Vieira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 616



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

“AVALIAÇÃO DOS DIFERENTES GRAUS DE FIBROSE NA ESTEATOHEPATITE NÃO ALCOÓLICA POR MÉTODOS SEMIQUANTITATIVOS, QUANTITATIVO, ELASTOGRÁFICO E ESCORES PREDITORES DE FIBROSE NÃO INVASIVOS”

TÚLIO DE PAULA VASCONCELOS

Dissertação subme da à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de **Pós-Graduação em Patologia**, como requisito para obtenção do grau de **Mestre em PATOLOGIA**, área de concentração **PATOLOGIA INVESTIGATIVA**.

Aprovada em 28 de julho, pela banca cons tuída pelos membros:

Prof. Cris ano Xavier Lima – Faculdade de Medicina/UFMG

Profa. Monica Maria Demas Alvares Cabral – Faculdade de Medicina/UFMG

Profa. Paula Vieira Teixeira Vidigal – Faculdade de Medicina/UFMG – ORIENTADORA

Belo Horizonte, 28 de julho de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Paula Vieira Teixeira Vidigal, Coordenador(a)**, em 05/09/2023, às 10:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Monica Maria Demas Alvares Cabral, Professora do Magistério Superior**, em 05/09/2023, às 10:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cris ano Xavier Lima, Chefe de departamento**, em 04/10/2023, às 10:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A auten cidade deste documento pode ser conferida no site [h ps://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2592818** e o código CRC **ED14227A**.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS****INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFMG****ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 467 DE TÚLIO DE PAULA VASCONCELOS**

Realizou-se, no dia 28 de julho de 2023, às 14 horas, no on-line, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de Dissertação, intitulada **“Avaliação dos Diferentes Graus de Fibrose na Esteatohepa te não alcoólica por Métodos Semiquan ta vos, Quan ta vo, Elastográfico e Escores Preditores de Fibrose não Invasivos”**, apresentada por **Túlio de Paula Vasconcelos** número de registro 2021674287, graduado no curso de Medicina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: **Prof. Cris ano Xavier Lima** – Faculdade de Medicina/UFMG; **Profa. Monica Maria Demas Alvares Cabral** – Faculdade de Medicina/UFMG; **Profa. Paula Vieira Teixeira Vidigal** – Faculdade de Medicina/UFMG – **ORIENTADORA.**

A Comissão considerou a Dissertação:

APROVADA

REPROVADA

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 28 de julho de 2023.

* De acordo com as Normas Gerais de Pós-Graduação da UFMG o grau de Mestre só será concedido ao aluno que entregar ao Colegiado do Curso, no prazo máximo de 60 dias, a versão final da Dissertação, em conformidade com as indicações da Comissão Examinadora. Após a entrega da versão final com a documentação exigida para emissão de Diploma, a secretaria emi rá Cer ficado de Conclusão do Mestrado.



Documento assinado eletronicamente por **Paula Vieira Teixeira Vidigal, Coordenador(a)**, em 05/09/2023, às 10:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Monica Maria Demas Alvares Cabral, Professora do Magistério Superior**, em 05/09/2023, às 10:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cris ano Xavier Lima, Chefe de departamento**, em 04/10/2023, às 10:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A auten cidade deste documento pode ser conferida no site [h ps://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2592815** e o código CRC **ED60DC2D**.

*Aos meu pais, Geraldo e Mírian, pelo
meu crescimento e formação todos os
dias. Meus exemplos e meus espelhos.*

*"Uma longa viagem de mil milhas inicia-se com o movimento de
um pé."*

Lao - Tsé

RESUMO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é a hepatopatia crônica mais comum no mundo embora o conhecimento acerca da sua fisiopatologia permaneça insuficiente. De forma semelhante, não são reconhecidos bons marcadores de gravidade e evolução da doença, sendo o grau de fibrose hepática o único fator prognóstico validado. Para se avaliar o grau de fibrose do fígado pode-se utilizar de um método invasivo, no caso a biópsia e que é considerada o padrão-ouro; e métodos não invasivos como os escores clínicos e os métodos de avaliação da rigidez hepática com o uso de ultrassom ou ressonância magnética. Portanto, o presente projeto teve como objetivo avaliar o grau da fibrose hepática por métodos semiquantitativos (escores histológicos), quantitativo (morfometria) em biópsias hepáticas de pacientes com diagnóstico de esteatohepatite não-alcoólica (EHNA) e comparar com os valores elastográficos de rigidez hepática e escores clínicos preditores de fibrose (FIB-4, APRI score e razão AST/ALT) dos mesmos pacientes. Foram selecionados 451 pacientes em acompanhamento clínico no ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica do HC/UFMG. Preencheram os critérios de inclusão no estudo 21 pacientes, sendo 20 mulheres e um homem. Além destes, foram incluídos mais três pacientes do HPMMG, em rotina de consultório de gastroenterologia, com duas mulheres e um homem, todos obedecendo os mesmos critérios de inclusão. A média de idade foi de aproximadamente 60 anos e a mediana do tempo de intervalo entre a biópsia e a elastografia foi de 8,5 meses. Segundo o escore de Laennec 15 pacientes eram cirróticos (cinco em cada grau) e nove não cirróticos. Foram observadas diferenças significativas entre os grupos com e sem cirrose quanto aos escores FIB-4, APRI e morfometria, porém não encontradas em relação à elastografia transitória e razão AST/ALT. O escore histológico de Laennec mostrou correlação direta com a elastografia transitória, escore clínico de FIB-4 e morfometria. No entanto, quando separados por graus (4A, 4B e 4C) os pacientes cirróticos, segundo Laennec, apresentou correlação somente com a morfometria. Foi realizada uma análise de Curva ROC com o objetivo de avaliar a sensibilidade e a especificidade do ponto de corte que melhor discrimina um paciente com cirrose baseando-se no escore de Laennec para as variáveis FIB-4 (1,070), APRI (0,450) e morfometria (13,2550). Para a elastografia transitória e Razão AST/ALT as áreas sob as curvas (AUROC) encontradas não foram estatisticamente significativas. Os escores clínicos de FIB-4, APRI e a morfometria se mostraram bons preditores do grau de fibrose hepática. Houve correlação entre o escore de Laennec com ET, FIB-4 e morfometria. O tamanho amostral prejudicou a avaliação estatística.

Palavras-chave: esteatohepatite; esteatohepatite não-alcoólica; esteatose; fibrose; elastografia; morfometria.

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common chronic liver disease in the world, although knowledge about its pathophysiology remains insufficient. Similarly, good markers of disease severity and evolution are not recognized, with the degree of liver fibrosis being the only validated prognostic factor. In order to assess the degree of liver fibrosis, an invasive method can be used, in this case biopsy, which is considered the gold standard; and non-invasive methods such as clinical scores and liver stiffness assessment methods using ultrasound or magnetic resonance imaging. Therefore, the present project aimed to evaluate the degree of hepatic fibrosis by means of semi-quantitative (histological scores) and quantitative (morphometry) methods in liver biopsies of patients diagnosed with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and to compare with the elastographic values of hepatic stiffness and clinical scores predictors of fibrosis (FIB-4, APRI score and AST/ALT ratio) of the same patients. A total of 451 patients undergoing clinical follow-up at the Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Outpatient Clinic at HC/UFGM were selected. Twenty-one patients met the inclusion criteria in the study, 20 women and one man. In addition to these, three more HPMMG patients were included, in the routine of a gastroenterology office, with two women and one man, all meeting the same inclusion criteria. The mean age was approximately 60 years and the median interval between biopsy and elastography was 8.5 months. According to the Laennec score, 15 patients were cirrhotic (five in each degree) and nine were non-cirrhotic. Significant differences were observed between the groups with and without cirrhosis regarding FIB-4 scores, APRI and morphometry, but not found regarding transient elastography and AST/ALT ratio. Laennec's histological score showed a direct correlation with transient elastography, clinical FIB-4 score and morphometry. However, when separated by grades (4A, 4B and 4C), cirrhotic patients, according to Laennec, presented a correlation only with morphometry. A ROC curve analysis was performed in order to assess the sensitivity and specificity of the cutoff point that best discriminates a patient with cirrhosis based on the Laennec score for the variables FIB-4 (1.070), APRI (0.450) and morphometry (13.2550). For transient elastography and AST/ALT ratio, the areas under the curves (AUROC) found were not statistically significant. Clinical FIB-4, APRI scores and morphometry were good predictors of the degree of liver fibrosis. There was a correlation between the Laennec score and ET, FIB-4 and morphometry. The sample size impaired the statistical evaluation.

Keywords: steatohepatitis; nonalcoholic steatohepatitis; steatosis; fibrosis; elastography; morphometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de prevalência estimada da DGHNA e EHNA.....	19
Figura 2. Representação esquemática das zonas hepáticas para o contexto de DHGNA e EHNA.....	21
Figura 3. Aspectos histológicos na DHGNA.....	22
Figura 4. Espectro da doença hepática gordurosa não alcoólica.....	24
Figura 5. Teoria dos dois golpe.....	25
Figura 6. Teoria dos múltiplos golpes paralelos.....	27
Figura 7. Linha do tempo dos sistemas de gradação histológica e estadiamento para a DHGNA.....	32
Figura 8. Exemplos de estadiamentos histológicos para a fibrose hepática.....	33
Figura 9. Escore histológico de Laennec para estágio de cirrose.....	36
Figura 10. Exemplo de Área Proporcional de Colágeno (APC).....	37
Figura 11. Aparelho Fibroscan® (Echosens, França).....	42
Figura 12. Fluxograma com critérios de inclusão e exclusão do estudo.....	48
Figura 13. Equipamento 3DHISTECH / Panoramic MIDI®.....	51
Figura 14. Exemplo de captura de segmento de lâmina com o software CaseViewer.....	51
Figura 15 Plug-in Manual Thresholding.....	52
Figura 16. Calibração do sistema com alça.....	52
Figura 17. Função Set Measurements com opção area fraction.....	53
Figura 18. Função Set Measurements com exemplo de resultado.....	54
Figura 19. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável idade.....	59
Figura 20. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável tempo entre biópsia e ET.....	60
Figura 21. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável ET.....	63
Figura 22. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável FIB-4.....	63
Figura 23. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável APRI.....	64
figura 24. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável Razão AST/ALT.....	64
Figura 25. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável morfometria.....	65
Figura 26. Curva ROC para determinação do ponto de corte da variável FIB-4 que melhor discrimina um paciente com cirrose.....	69
Figura 27. Curva ROC para determinação do ponto de corte da variável APRI que melhor discrimina um paciente com cirrose.....	71
Figura 28. Curva ROC para determinação do ponto de corte da variável morfometria que melhor discrimina um paciente com cirrose.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Escore de NAS (Non-alcoholic Fatty liver disease Activity Score).....	34
Tabela 2. Escore histológico de Laennec	35
Tabela 3. Análise descritiva e comparativa entre os grupos de pacientes COM ou SEM cirrose quanto à idade, tempo aproximado entre biópsia e elastografia e escores NAS e Laennec	58
Tabela 4. Análise de relação entre os Escores Laennec e NAS, no geral.....	61
Tabela 5. Análise descritiva e comparativa entre os grupos de pacientes COM ou SEM cirrose quanto as medidas das variáveis ET (kPa), FIB-4, APRI, Razão AST/ALT e morfometria.....	62
Tabela 6. Análise de correlação entre escore e variáveis de interesse.....	66
Tabela 7. Análise descritiva e comparativa entre os três níveis do escore de Laennec dos pacientes COM cirrose quanto às medidas das variáveis ET, FIB-4, APRI, Razão AST/ALT e morfometria	68
Tabela 8. Coordenadas da curva ROC para determinação do ponto de corte da variável FIB - 4 que melhor discrimina um paciente com cirrose	70
Tabela 9. Coordenadas da curva ROC para determinação do ponto de corte da variável APRI que melhor discrimina um paciente com cirrose	72
Tabela 10. Coordenadas da curva ROC para determinação do ponto de corte da variável morfometria que melhor discrimina um paciente com cirrose	73

LISTA DE ABREVIATURAS

- APRI - AST: platelet ratio index
- ALT - Alanina aminotransferase
- AST - Aspartato aminotransferase
- AUROC - Área sob a curva ROC CC - Circunferência da cintura
- CHC - Carcinoma hepatocelular
- COEP - Comitê de Ética em Pesquisa
- DHGNA - Doença hepática gordurosa não alcoólica
- DM II - Diabetes mellitus do tipo II
- DNA – Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)
- EHNA – Esteatohepatite não alcoólica
- ESNA – Esteatose simples não alcoólica
- ET – Elastografia hepática transitória
- EUA- Estados Unidos da América
- FA – Fosfatase alcalina
- FIB-4- Fibrosis-4 index
- GCKR - Glucokinase regulator gene
- GGT - Gama glutamiltransaminase
- HbA1c - Hemoglobina glicada
- HC – UFMG – Hospital das Clínicas de Universidade Federal de Minas Gerais
- HCV - Hepatitis C vírus
- HDL – High density lipoprotein (Lipoproteína de alta densidade)
- HPMMG – Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais
- IFRA - Impulso de força de radiação acústica
- IMC- Índice de massa corpórea
- IMF – Intensidade média de fluorescência
- IQR- Intervalo interquartil
- LDL – Low density lipoprotein (Lipoproteína de baixa densidade)
- Kpa- Kilopascal
- Log- Logaritmo
- LPS – Lipopolissacarídeos
- mmHg – Milímetros de mercúrio
- MMP – Metaloproteinase de matriz

NAS score – Nonalcoholic fatty liver disease activity score (Escore de atividade da doença hepática gordurosa não alcoólica)

OMS - Organização Mundial da Saúde

PNPLA3 - Patatin-like phospholipase domain-containing protein-3

PNPLA2 - Patatin Like Phospholipase - Domain 2

SWE - Point Shear Wave Elastography

ROC - Receiver Operating Characteristic Curve (Característica de Operação do Receptor)

ROS – Reactive oxygen species (Espécies reativas de oxigênio)

SAF - Steatosis, Activity and Fibrosis score (Escore de esteatose, atividade e fibrose hepática)

SM - Síndrome metabólica

SN – Sensibilidade SP – Especificidade

TG – Triglicérides

TM6SF2 - Transmembrane 6 Superfamily Member 2

TNF – Tumor Necrosis Factor (Fator de Necrose Tumoral) UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

VLDL – Very low density lipoprotein (Lipoproteína de muito baixa densidade) VPN – Valor preditivo negativo

VPP – Valor preditivo positivo

2D-SWE - Two Dimensional Shear Wave Elastography

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	Epidemiologia	17
2.2	Formas de apresentação	18
2.3	Patogênese	22
2.4	Hipóteses teóricas na DHGNA	23
2.5	Cirrose	26
2.6	Diagnóstico	27
2.6.1	Biópsia	27
2.1.2	Estadiamentos Histológicos	29
2.6.3	Morfometria	35
2.7	Métodos não invasivos	37
2.7.1	Elastografia	39
2.7.2	Escores clínicos preditores de fibrose	41
2.8	Justificativa	43
3	OBJETIVOS PROPOSTOS	44
3.1	Geral	44
3.2	Específicos	44
4	MATERIAIS E MÉTODOS E POPULAÇÃO ESTUDADA	45
4.1	Delineamento do estudo	45
4.2	Aspectos éticos	45
4.3	População estudada	45
4.4	Avaliação clínica e laboratorial	48
4.5	Avaliação histológica	49
4.6	Análise morfométrica	50
4.1	Escores clínicos não-invasivos preditores de fibrose	54
4.8	Análise estatística	55
5	RESULTADOS	56
5.1	Descrição da amostra e dos pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável de interesse	56
5.2	Avaliação da relação entre os escores de Laennec e NAS	59
5.3	Comparação dos pacientes dos grupos COM e SEM cirrose quanto às variáveis ET, FIB-4, APRI, Razão AST/ALT e morfometria	60

5.4 Análise de correlação entre os escores e variáveis de interesse	64
5.5 Aplicação da curva ROC	67
6 DISCUSSÃO	73
7- CONCLUSÕES	77
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1 INTRODUÇÃO

O fígado é o segundo maior órgão do corpo (após a pele) e com peso estimado em 1,5 kg para um adulto de peso médio. Apresenta uma variedade enorme de funções como por exemplo síntese de proteínas plasmáticas, destoxificação de drogas e álcool, produção de bile, dentre inúmeras outras. Até o momento, não existem meios artificiais que possam substituir o mesmo e que é essencial para a manutenção da homeostasia corporal revelando assim sua importância (NAGATO et al., 2011).

A Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) é umas das principais doenças que acometem o fígado e ocorre quando há esteatose hepática, na ausência de causas secundárias, como uso de drogas ou álcool. Na esteatose hepática há o acúmulo lipídios, mais comumente na forma de triglicérides (TG) nos hepatócitos; e é clinicamente significativa quando acima de cinco por cento do peso do órgão (MAURICE; MANOUSOU, 2018; SILVA et al., 2020).

A DHGNA engloba, além da esteatose hepática não alcoólica ou esteatose simples não alcoólica (ESNA), a esteatohepatite não alcoólica (EHNA). Nesta ultima há inflamação e balonização, com ou sem fibrose. Acredita-se também que apresente um curso clínico mais agressivo com maiores taxas de morbidade e mortalidade (BERTOT; ADAMS, 2016).

A EHNA é uma condição dinâmica que pode regredir para esteatose, permanecer em latência, em um nível relativamente constante de atividade inflamatória, ou causar fibrose progressiva que pode levar à cirrose (menor parte dos casos). E embora a progressão da ESNA para EHNA seja geralmente concebida como um processo sequencial, a heterogeneidade que existe em termos de repercussões clínicas desses dois subgrupos levou ao conceito de que a DHGNA e EHNA podem corresponder a duas entidades diferentes (POVSIC et al., 2019).

A patogênese da DHGNA é multifatorial e seu entendimento ainda é incompleto. Embora o conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares subjacentes ao desenvolvimento da doença e sua progressão tenha crescido significativamente nos últimos anos, a contribuição exata dos fatores ambientais e genéticos, bem como de eventos extra e intra-hepáticos na determinação da doença, ainda permanecem mal definidos. Atualmente, a hipótese de múltiplos *hits* que implicam em uma miríade de fatores, atuando de forma sinérgica ou sequencial, em indivíduos com predisposição genética, é a mais aceita (TILG; MOSCHEN, 2010). Estudos de história natural dessa entidade indicam que a gravidade da

fibrose hepática é o único marcador histológico capaz de prever, de forma independente, a mortalidade devido a causas hepáticas, ou transplante hepático, em pacientes portadores de DHGNA (MAURICE;MANOUSOU, 2018).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Epidemiologia

Estima-se que a prevalência da DHGNA seja 25% globalmente e 32% na América do Sul. É previsto que cerca de três a cinco por cento da população mundial apresente EHNA (figura 1), sendo sua ocorrência fortemente associada a comorbidades metabólicas (YOUNOSSI et al., 2016; POVSIC et al., 2019).

Acredita-se também, com base em exames de imagem e laboratoriais, que a DHGNA seja a causa mais comum de doença hepática crônica em adultos nos EUA, Europa, Ásia e Austrália; concomitante com a epidemia de obesidade em países desenvolvidos. Ainda nos EUA a prevalência estimada está em torno de 10 a 20% em obesos e 37% naqueles com obesidade severa. Em obesos mórbidos a taxa chega a ser entre 75 a 92% (KLEINER et al., 2005; BARR et al., 2015).

No Brasil os dados epidemiológicos acerca da DHGNA são desconhecidos pela falta de estudos mais aprofundados sobre o tema. Em dados de ultrassonografia, como método diagnóstico na população geral, os valores foram estimados em aproximadamente 20% (COTRIN et al., 2011).

A DHGNA é hoje a segunda causa mais comum em listas de transplante hepático no mundo e com tendência para se tornar a primeira. Acreditando-se também que muitas vezes esteja subestimada, quando os sinais histológicos não estão mais presentes no fígado cirrótico (BERTOT; ADAMS, 2016).

Quanto ao gênero masculino e feminino e sua associação com fibrose na DHGNA não existem relações consistentes, sendo que os relatos de estudos transversais apresentam dados conflituosos. Mas acredita-se que homens e mulheres na pós-menopausa apresentem maior risco quando comparadas as mulheres na pré-menopausa (BERTOT; ADAMS, 2016).

Em relação a idade, e de acordo com estudos transversais, os pacientes com EHNA com idade mais avançada apresentam fibrose também mais avançada e maior duração da doença, possivelmente pelo acúmulo de lesões hepáticas ao longo do envelhecimento. No entanto, estudos longitudinais não confirmam tal fato (BERTOT; ADAMS, 2016).

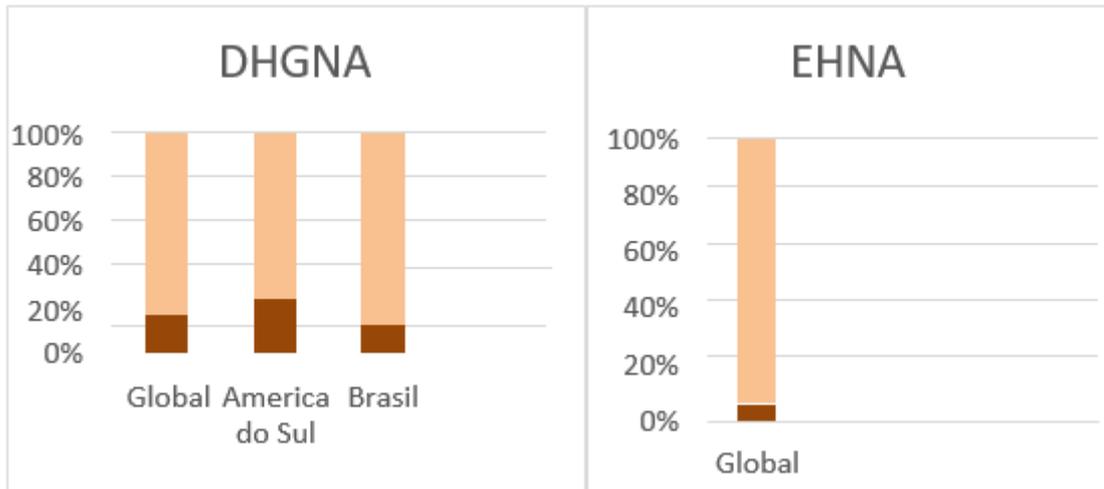


Figura 1. Gráfico de prevalência estimada da DHGNA e EHNA, respectivamente. *Fonte: YOUNOSSI et al., 2016; POVSIC et al., 2019*

2.2 Formas de apresentação

A esteatose nos adultos, em geral, se distribui em um padrão de acúmulo próximo a zona três hepatocitária ou pericentral, isto é próximo a veia centrolobular; e quando abundante pode se tornar panacinar (figura 2). A DHGNA compreende também, além da esteatose simples ou esteatose simples não-alcoólica (ESNA), a esteatohepatite não-alcoólica (EHNA). Nesta última há também um componente inflamatório misto (figura 3). Este é mais comumente lobular (no parênquima hepático) e com tendência a ser mais acentuado na região portal. Inicialmente os focos de inflamação podem ser encontrados na zona três e podem ser tornar também difusos com a evolução da doença (BEDOSSA, 2016).

A esteatose pode se apresentar morfológicamente na histologia sob algumas formas. Dentre elas a macrovesicular (figura 3) na qual uma gota de lipídio ocupa a maior parte do citoplasma do hepatócito e que geralmente é a mais comum. A médiovesicular na qual existem gotas médias; e mais raramente a microvesicular que é constituída de minúsculos vacúolos podendo aparentar aspecto espumoso. A partir dessa definição foram criadas escalas histológicas simples para a graduação da esteatose; sendo o grau 0 ou normal quando presente em menos de cinco por cento da amostra; grau I se mais que cinco por cento e menor que 33%; grau II se entre 33 a 66% e grau III se acima de 66% (BEDOSSA, 2016).

Além da inflamação a balonização ou degeneração hidrópica (figura 3), resultado do desequilíbrio do fluxo de água para o interior da célula e secundário a alterações na

membrana, é outra característica importante na EHNA. Nela os hepatócitos apresentam citoplasma de aparência clara, não-vacuolados, lembrando formato de balão, sendo de tamanhos aumentados ou não. Essas células balonizadas tendem a ser vistas também geralmente na zona três, onde se encontram misturadas com as fibras de colágeno perissinusoidal (figura 3). Assim, a inflamação lobular e balonização são comumente suficientes para um quadro de EHNA em contexto de ESNA (BEDOSSA, 2016).

No entanto, apenas uma menor parte dos pacientes portadores de DHGNA desenvolvem problemas crônicos relacionados à doença, estimando-se que quatro a oito por cento morrerão de complicações da cirrose, e cerca de um a cinco por cento em decorrência do desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC). É importante ressaltar que o número total de pacientes com doença hepática terminal que tem como causa a DHGNA está crescendo rapidamente em todo o mundo. Foi contabilizado um aumento de 170% associado a DHGNA, na lista de espera para transplante hepático nos EUA entre os anos de 2004 a 2013 (MAURICE; MANOUSOU, 2018).

Já os pacientes com cirrose em contexto de EHNA requerem investigação especial para CHC, varizes esofágicas e outras complicações. Em caso de descompensação com ascite, sangramento de varizes no esôfago e encefalopatia hepática deve-se solicitar avaliação precoce por um centro de transplante. (MCPHERSON, 2017; MAURICE; MANOUSOU, 2018).

Acredita-se também que mesmo em um quadro de DHGNA sem EHNA possa evoluir para fibrose progressiva (além da própria EHNA), com base em estudos recentes, mas em ritmo significativamente menor. Isso demonstra a importância do nível ou quantificação da fibrose para a determinação do risco de mortalidade desses pacientes. Um maior entendimento dos fatores que mudam a história natural da doença poderá levar a um melhor prognóstico e direcionamento de populações acometidas e uso de terapias específicas (BERTOT; ADAMS, 2016).

Tendo em vista sua grande prevalência a como causa de doença hepática, a DHGNA se tornou nas últimas décadas uma das principais linhas de pesquisa. Com isso gerando a possibilidade de desenvolvimento de novas opções terapêuticas e propedêuticas (MAURICE; MANOUSOU, 2018).

No Brasil a avaliação da DHGNA pode se basear em consensos, dentre eles o da Sociedade Brasileira de Hepatologia que reforça a investigação de fatores metabólicos e doenças que possam estar associadas à esteatose, sendo os exames de imagem as formas complementares para o diagnóstico em relação à biópsia. E Sendo esta última fortemente

recomendada quando há suspeita de EHNA e para diagnóstico diferencial com outras doenças crônicas do fígado (SILVA et al., 2019).

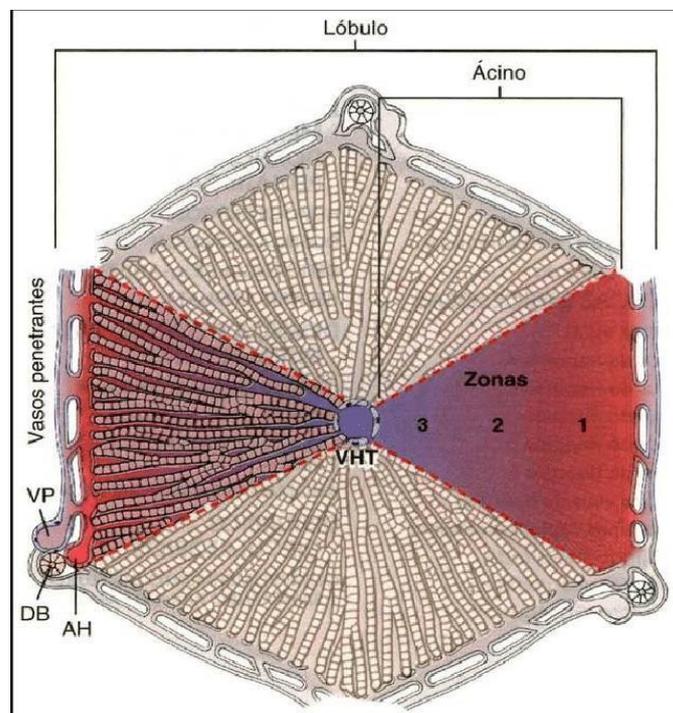


Figura 2. Representação esquemática das zonas hepáticas para o contexto de DHGNA e EHNA. Um lóbulo hepático, constituído por seis ácidos, apresenta formato hexagonal com seus espaços portais em cada vértice. Um trato portal é representado por um ramo da veia porta, um ramo da artéria hepática e um ducto biliar. Ao centro observa-se a veia centrolobulillar. A zona 3 é onde inicialmente, e em geral, se desenvolve um padrão de acúmulo de lipídios, focos de inflamação e balonização podendo ocupar todo o ácido com a evolução da doença; e focos inflamatórios se tornando mais notáveis em zonas portais. Fonte: Modificada de Junqueira; Carneiro, 2017.

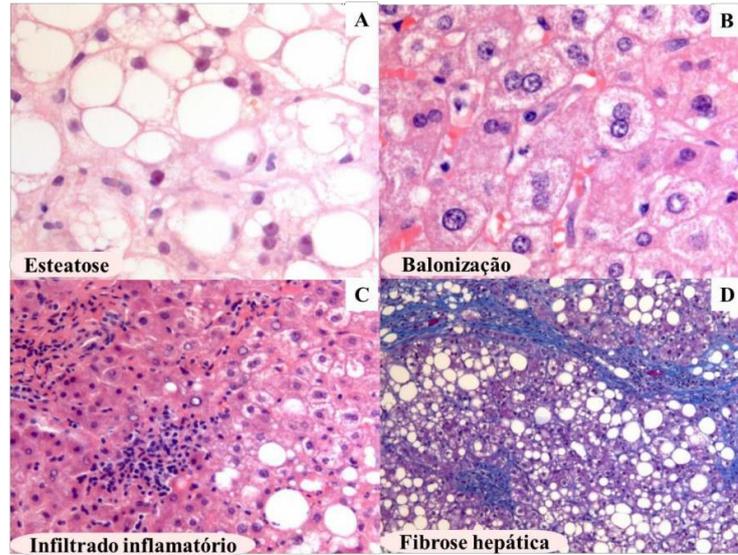


Figura 3. Aspectos histológicos na DHGNA. (A) Esteatose macrovesicular com grande gota de gordura simples deslocando o núcleo para a periferia celular (coloração hematoxilina e eosina); (B) Balonização de hepatócitos (coloração hematoxilina e eosina) (C) Infiltrado inflamatório misto, composto por linfócitos, alguns eosinófilos e neutrófilos (coloração hematoxilina e eosina); (D) Fibrose hepática causada pela deposição de colágeno e outras fibras da matriz extracelular, ao longo dos capilares sinusoides e hepatócitos da zona 3 (coloração tricrômico de Masson). Fonte: Modificada de Cabezas; Mayorga; Crespo, 2012.

2.3 Patogênese

Ainda não é conhecido o motivo que leva a evolução da ESNA para a EHNA. Mas acredita-se que a ocorrência de comorbidades metabólicas estejam associadas, tais como a obesidade, o diabetes mellitus tipo II (DM II), hipertensão arterial, polimorfismo genético como nos genes PNPLA3 (Patatin-like phospholipase domain-containing protein-3) e TM6SF2 (Transmembrane 6 Superfamily Member 2), além da síndrome metabólica (SM). Esta última, de grande importância, é definida como a presença de obesidade central (circunferência da cintura [CC] ≥ 90 cm para homens e ≥ 80 cm para mulheres) somada de pelo menos mais dois dos seguintes fatores: TG ≥ 150 mg/dL, High-Density Lipoprotein (HDL) < 40 mg/dL para homens ou menor do que 50 para mulheres, glicemia ≥ 100 mg/dL e hipertensão arterial (pressão arterial $\geq 130/85$ mmHg) segundo os critérios adotados pela Federação Internacional de Diabetes. (POVSIC et al., 2019; BERTOT; ADAMS, 2016; ALBERTI et al., 2009).

Alguns estudos sugerem também que o acúmulo de TG pelo hepatócito possa funcionar como um fator protetor em decorrência da lipotoxicidade ectópica. Embora uma metanálise tenha revelado que mesmo pacientes com esteatose simples na DHGNA também possam evoluir para fibrose, mas em progressão significativamente menor que na EHNA (BEDOSSA, 2016).

Pessoas com ESNA e sem achados adicionais de lesão hepática geralmente seguem um curso benigno e sem maior mortalidade relacionada à doença. Isso quando comparadas com a população geral de mesma idade e gênero (BEDOSSA, 2016).

Já a EHNA é uma doença que pode ser progressiva e em que o estágio final pode se manifestar na forma de carcinoma hepatocelular (CHC) (figura 5). Especialmente se associado à fibrose e cirrose (POVSIC et al., 2019).

A cirrose representa o estágio mais avançado da fibrose e algumas de suas complicações incluem as varizes esofágicas, ascite e encefalopatia hepática. Tal fato se deve à subversão da arquitetura do órgão e que gera um aumento da resistência intra-hepática levando também ao aumento da pressão portal. Valores de 10-12 mmHg são suficientes para que essas complicações citadas possam se estabelecer, caracterizando a chamada hipertensão portal clinicamente significativa (KUMAR et al., 2008).

Considera-se ainda que a DHGNA possa ser a principal causa de cirrose criptogênica. Que ocorre, ou é definida, quando achados patológicos ou laboratoriais não permitem identificar a etiologia da doença (KLEINER et al., 2005).

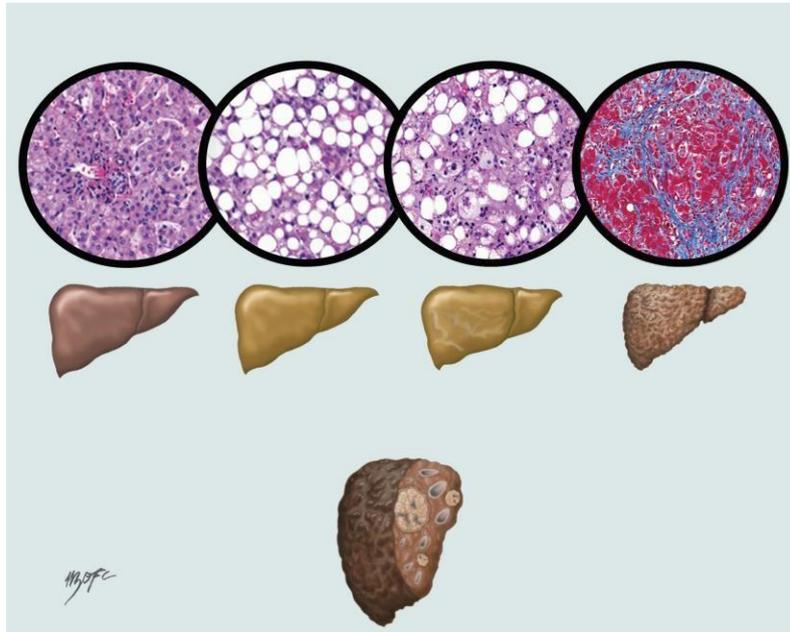


Figura 4. Espectro da doença hepática gordurosa nãoalcoólica. A DHGNA abrange um largo espectro de doenças (da esquerda para a direita), incluindo esteatose simples não alcoólica (ESNA), esteatohepatite não alcoólica (EHNA), cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (CHC) (inferiormente na figura); sendo o transplante hepático opção terapêutica para estas duas últimas fases. Fonte: Modificada de Povsic et al., 2019.

2.4 Hipóteses teóricas na DHGNA

Foi proposta, em 1998, uma teoria para explicar o mecanismo de evolução da DHGNA. Teoria essa chamada de “two hits” ou traduzindo “dois golpes” (figura 6). Nela o “primeiro golpe” se deve a maior concentração de TG e ácidos graxos nos hepatócitos por causa da resistência periférica à insulina. Já o “segundo golpe” seria a perioxidação lipídica que se traduz pela captação de ácidos graxos na B-oxidação mitocondrial ao invés dos carboidratos e gerando assim espécies reativas de oxigênio (ROS) também dentro do hepatócito levando então a alteração na função mitocondrial com consequente apoptose (DAY; JAMES, 1998).

Entretanto, posteriormente, a Teoria dos “dois golpes” se mostrou insatisfatória para

explicar toda a heterogeneidade da condição da doença. As novas evidências levaram à criação de uma nova teoria, em 2010, então chamada de “Teoria dos múltiplos hits paralelos” ou “Teoria dos múltiplos golpes paralelos” (figura 7). Nela o tecido adiposo com sua lipotoxicidade (em pacientes obesos) e alterações nas funções microbianas intestinais contribuem para a evolução da inflamação e fibrose na DHGNA, somando-se a primeira teoria proposta (TILG; MOSCHEN, 2010).

No contexto da interação entre o tecido adiposo, trato gastrointestinal e fígado, acredita-se que mudanças na microbiota intestinal durante o desenvolvimento da obesidade gerem um aumento na permeabilidade intestinal levando a ativação de algumas células residentes no fígado como as células estreladas e de Kupffer; e de leucócitos na circulação. Essas populações ativadas produzem mediadores inflamatórios característicos do estado inflamatório crônico e que podem ser fundamentais para esclarecer as diferentes formas de evolução clínica entre aqueles pacientes com DHGNA como quimiocinas, citocinas, metaloproteinases de matriz (MMPs) e seus inibidores teciduais (DAY; JAMES, 1998; TILG; ADOLPH; MOSCHEN, 2021; TILG; MOSCHEN, 2010).

Em 2021 a “Teoria dos múltiplos hits paralelos” foi reformulada acrescentando também variações genéticas como as que ocorrem nos genes PNPLA2 (Patatin Like Phospholipase Domain 2) e GSKR (Glucokinase regulator gene) e que leva a uma maior propensão e progressão para a doença (SOOKOIAN et al., 2020; TILG; ADOLPH; MOSCHEN, 2021).

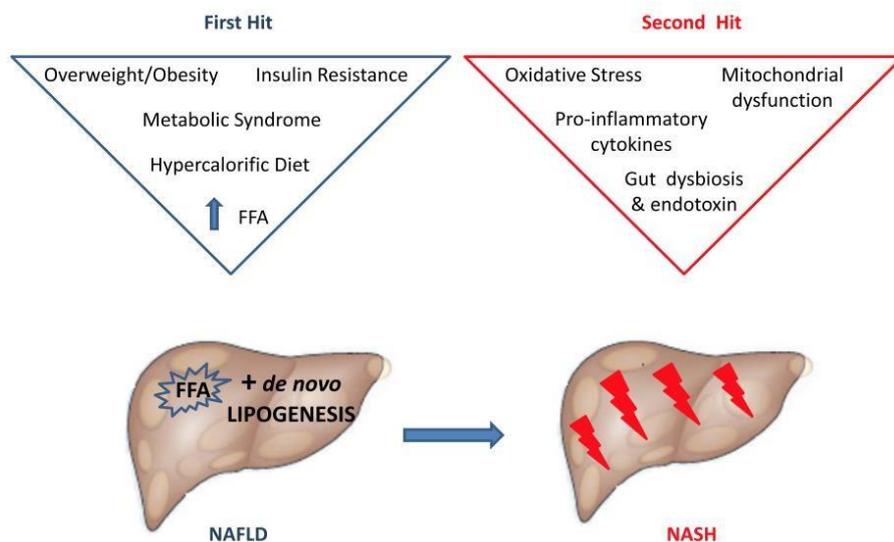


Figura 5. Teoria dos dois golpes. A hipótese dos “dois golpes” ou “two hits” pode ser explicada na qual “o primeiro golpe” consiste no acúmulo intra-hepático de ácidos graxos, que está intimamente associado à resistência à insulina; e que aumenta a suscetibilidade dos hepatócitos a lesões ou insultos secundários ou “segundo golpe” como estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, superprodução e liberação de citocinas pró-

inflamatórias e a ativação mediada por endotoxina da resposta imune inata. Fonte: Modificado de Giorgio et al., 2013.

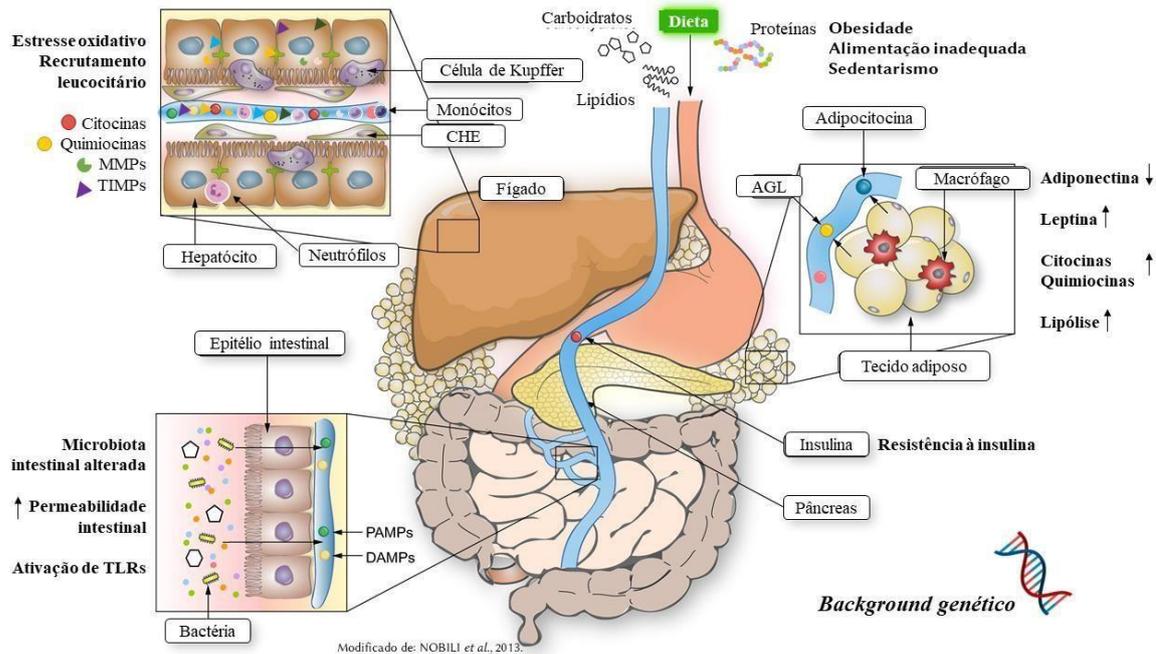


Figura 6. Teoria dos múltiplos golpes paralelos. Os “golpes” de acordo com essa teoria são os responsáveis pela progressão da DHGNA para a EHNA. Nela estão incluídas os “dois golpes” da primeira teoria que são resistência periférica a insulina e estresse oxidativo. Soma-se a isto, predisposições genéticas, alterações metabólicas causadas pela obesidade, alterações na microbiota intestinal que levam ao aumento da permeabilidade intestinal, ativação de macrófagos (células de Kupffer) e células hepáticas estreladas no fígado e participação de células do sistema imunológico e seus mediadores inflamatórios. Fonte: Modificado de Nobili et al., 2013.

2.5 Cirrose

A cirrose é um processo difuso caracterizado por fibrose extensa e com alteração na arquitetura hepática. Além disso, foi considerada como um processo irreversível até em momentos recentes (SERPAGGI et al., 2006).

O termo cirrose foi criado por Laennec em 1819 no contexto da patologia hepática. E tem gerado discussão desde o início do século XX e até em tempos atuais (DESMET; ROSKAMS, 2016).

Em 1956, no V Congresso Pan-Americano de Gastroenterologia, foi criada uma definição de cirrose que serviu para o atual conceito e não devendo ser entendida somente como sinônimo de fibrose, mas como uma doença terminal com repercussões sistêmicas. Ocorrendo também formações de nódulos e septos fibróticos ligando regiões portais e centrais (DESMET; ROSKAMS, 2016).

Já em 1978 a Organização Mundial da Saúde (OMS) patrocinou um grupo que definiu a cirrose como um processo difuso, em que além de fibrose, há também com conversão da arquitetura normal do fígado em nódulos anormais. Foram sugeridas também alterações

hemodinâmicas importantes que são shunts vasculares intra-hepáticos entre vasos aferentes (veia porta e artéria hepática) e eferentes (veia hepática) e são determinados pela topografia dos septos fibrosos vascularizados (DESMET; ROSKAMS, 2016).

No que diz respeito ao processo fisiopatológico acredita-se que as células do fígado estimulam a formação de tecido conjuntivo reativo ou um mecanismo de lesão inflamatória crônica em que as alterações epiteliais são secundárias à cicatrização mesenquimal. Além dessas alterações morfológicas ocorrem também alterações funcionais características que são redução funcional, hipertensão portal, ascite e tendência a progressão da condição (DESMET; ROSKAMS, 2016)

Há ainda relatos de casos quanto reversibilidade da fibrose em pacientes em doenças hepáticas tais como na cirrose autoimune, Doença de Wilson ou hemocromatose. Também, foi detectada diminuição da fibrose, e até na cirrose, em uma serie de casos de pacientes infectados pelo VHC e que fizeram uso de interferon gama. Nesta série de casos a principal preocupação de Serpaggi e colaboradores foi o potencial erro de amostragem da biópsia. Então essa reversibilidade parcial poderia representar apenas a distribuição heterogênea das lesões fibróticas. Para complementar o estudo das biópsia e endossar a regressão foram feitas as análises de marcadores indiretos morfológicos e bioquímicos de cirrose (SERPAGGI et al., 2006).

Admite-se que velocidade de regressão da fibrose possa variar de acordo com a duração do processo, componentes da matriz extracelular, celularidade e localização. Já as evidências disponíveis sugerem que a cirrose não é completamente reversível, mas apenas parcialmente (DESMET; ROSKAMS, 2016).

2.6 Diagnóstico

2.6.1 Biópsia

O diagnóstico da DHGNA pode ser realizado no contexto de esteatose na ausência de causas secundárias e em seguida feita uma classificação de risco para a presença de EHNA e fibrose. A pesquisa geralmente é iniciada quando exames laboratoriais das transaminases alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) encontram-se elevadas. No entanto, muitos pacientes com DHGNA e EHNA podem apresentar valores laboratoriais normais. O quadro também deve ser suspeitado naqueles pacientes de alto risco como em

contexto SM e DM II, mesmo que os níveis de transaminases estejam dentro da normalidade (MAURICE; MANOUSOU, 2018).

Apesar da criação de vários algoritmos envolvendo dados clínicos e biológicos não existem métodos não invasivos, que possam ser usados com precisão para o diagnóstico definitivo de EHNA. Ou mesmo para diferenciá-la da esteatose pura (BEDOSSA, 2016).

A biópsia hepática, que é o método invasivo, é considerada atualmente e há mais de duas décadas, o padrão-ouro para diagnóstico e avaliação da presença de fibrose. Além disso, a análise histopatológica pode permitir avaliar a necroinflamação ou até mesmo a etiologia da lesão hepática (HALÁSZ et al., 2016).

A avaliação da fibrose hepática pela biópsia assume especial importância na DHGNA e EHNA, já que é o fator mais importante para o manejo clínico na doença associado com a morbimortalidade e estadiamento da condição. No entanto, não existe consenso de quando a biópsia deve ser realizada num quadro de DHGNA. De acordo com a Associação Europeia para o Estudo do Fígado a mesma poderá ser feita na existência de fatores de risco metabólicos, alterações em exames de ultrassonografia, de valores de enzimas hepáticas e após um especialista excluir outras causas de doenças hepáticas crônicas (MASUGI et al., 2018; EASL–EASD–EASO, 2016).

Apesar do grande número de indivíduos que possuem EHNA, levando em consideração dados epidemiológicos, a biópsia hepática deve ser feita em pacientes selecionados. Sempre contrabalanceando os riscos e benefícios, e não como método de rastreio (BEDOSSA, 2016).

Isso se explica pelo fato da biópsia hepática possuir limitações. É um método, ainda que minimamente invasivo, com potencial morbimortalidade por complicações como dor, sangramentos, pneumotórax, dentre outros; além de ser um exame de alto custo ao sistema de saúde (HALÁSZ et al., 2016).

Na biópsia podem ocorrer também erros de amostragem. Isso quando o material examinado não representa o real estado do órgão ou por conta de amostragem pequena, sendo um exame examinador-dependente na coleta. Quanto as dimensões da amostra, um comprimento de 25 mm pode ser considerado ótimo para quantificar e avaliar. E 15 mm de comprimento já é capaz de fornecer informações importantes. Mas independente destes valores é de suma importância a opinião do patologista em relação ao espécime e aquilo que ele julgar como adequado (HALÁSZ et al., 2016; BEDDOSA, 2016).

Soma-se a isto as limitações relacionadas à variabilidade na DHGNA, que pode apresentar uma distribuição heterógena e difusa no parênquima hepático, podendo exibir

diferenças sobretudo no grau de fibrose hepática (KLEINER; BRUNT, 2012; LARSON et al., 2007; NALBANTOGLU; BRUNT, 2014).

Uma outra importante limitação para uma correta avaliação ou interpretação da biópsia hepática é o fato de ser um exame observador-dependente. Sendo fundamental, portanto, a experiência e a qualificação do patologista que a avalia (HALÁSZ et al., 2016). Ainda que seja um exame padrão-ouro imperfeito, tendo em vista também que uma amostra representa aproximadamente 1/50000 do parênquima hepático, ainda é o principal método para avaliar os danos ou lesões hepáticas; e esforços estão sendo feitos para que amostragens sejam mais precisas para revelar os achados histológicos em pacientes com DHGNA (LARSON et al., 2007).

2.1.2 Estadiamentos Histológicos

Um aumento anormal na deposição de colágeno e outros componentes da matriz extracelular em resposta a uma lesão crônica caracterizam a fibrose. Já um processo difuso, caracterizado por fibrose com conversão da arquitetura normal do fígado em nódulos estruturalmente anormais definem a cirrose hepática (BAAR et al., 2015).

Knodell e colaboradores descreveram em 1981 o primeiro escore histológico semiquantitativo de fibrose hepática. Foi avaliado no contexto de hepatite crônica e proposto o índice de atividade histológica (IAH). Este foi calculado pela soma de quatro características semi-quantitativas. Entre elas: degeneração hepatocitária e/ou necrose focal; necrose periportal e/ou em ponte; inflamação portal; e cirrose (ALMPANIS; DEMONAKOU; TINIAKOS, 2016. ANSTEE et al., 2019).

Assim de acordo com o IAH, a fibrose pode ser escalonada em grupos: sendo 0 o estágio em que não existe fibrose; estágio 1 que corresponde a expansão fibrosa dos tratos portais; 3 que é caracterizado pela fibrose em ponte e é o estágio intermediário; e o 4 corresponde a cirrose. Para melhor distinguir entre doença leve e grave, Knodell e colaboradores eliminaram o estágio 2 de sua classificação (ALMPANIS; DEMONAKOU; TINIAKOS, 2016).

Os principais sistemas histológicos de fibrose hepática que são usados na rotina clínica atualmente derivam do escore de fibrose de Knodell e colaboradores e possuem graduação em cinco níveis. Entre eles o de Scheuer, Ishak, Batts-Ludwig e METAVIR. São empregados para avaliar a localização, grau de fibrose portal e periportal e fibrose em ponte e

nodularidade (ALMPANIS; DEMONAKOU; TINIAKOS, 2016; BAAR et al., 2015).

No âmbito da DHGNA, várias graduações histológicas para fins de estadiamento foram criadas e revisadas, a partir de 1999 (BRUNT et al., 1999). Um escore recentemente criado é o SAF score (Steatosis, Activity and Fibrosis) que foi proposto por Bedosa e colaboradores. Ele sumariza os principais aspectos histológicos da biópsia que são esteatose, atividade/inflamação e fibrose. A partir de um sistema de pontuação poderá ser definido um quadro de DHGNA ou EHNA (BEDOSSA et al., 2012).

Kleiner e colaboradores criaram, em 2005, o escore de NAS (Non-alcoholic Fatty liver disease Activity Score) (tabela 1) que ainda é até hoje o mais utilizado na prática clínica. A partir de variáveis como esteatose, balonização e inflamação também é feito um sistema de pontuação, mas sem a variável de fibrose (KLEINER et al., 2005).

A avaliação do escore de NAS é feita a partir análise histológica de 0 a 8 pontos: o grau de esteatose (0 – 3); inflamação lobular (0 – 3) e balonização (0 – 2). O percentual de menos de 5% de esteatose recebe 0; de 5 a 33%, recebe 1; de 34 a 66%, recebe 2; e maior que 66%, recebe 3 pontos. Quanto à balonização em nenhuma: 0; pouca: 1; ou muita: 2 pontos. E inflamação lobular em nenhuma: 0; 1-2 focos em 20 campos: 1; 3-4 focos em 20 campos: 2; e > 4 focos em 20 campos: 3 pontos. Para o diagnóstico de EHNA é necessária a presença de esteatose associada à balonização hepatocitária e/ou ao infiltrado inflamatório. Caso a somatória dos pontos apresente valor maior ou igual a cinco o diagnóstico pode ser considerado. O grau de fibrose é avaliado de modo semiquantitativo e independente do escore (YOUNOSSI et al., 2011)

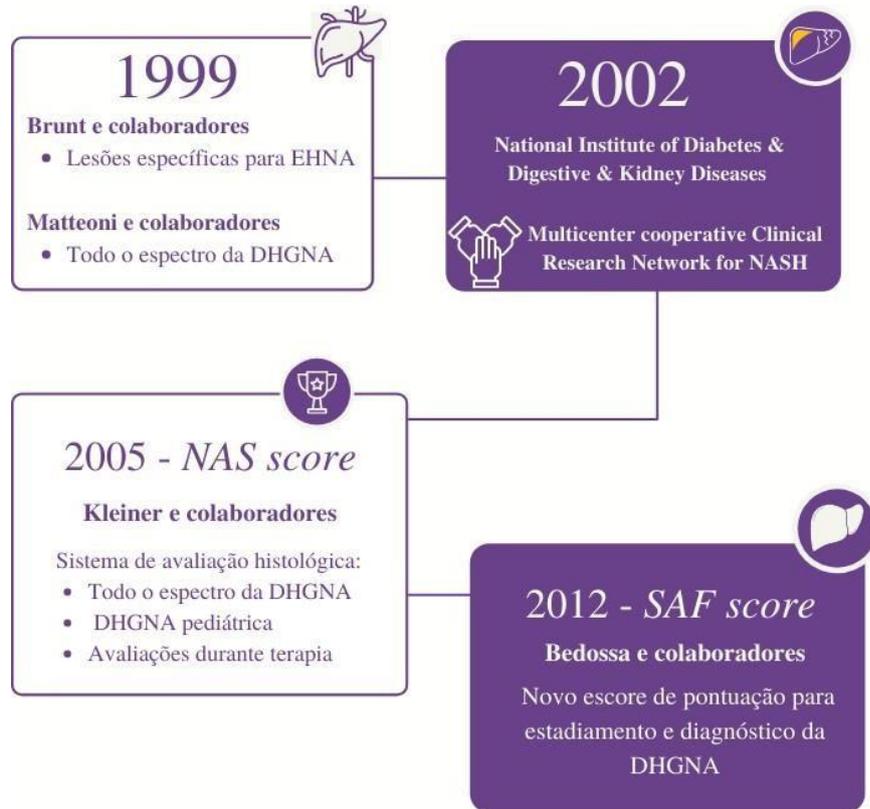


Figura 7. Linha do tempo dos sistemas de graduação histológica e estadiamento para a DHGNA.

Staging system	Stage	Histologic description	Features	Limitations
Scheuer [10]	0	No fibrosis	Preferred for CHB and CHC Simple in routine practice	Difficult distinction between stage 1 and stage 2 Unclear description of stage 3 Inclusion of both periportal fibrosis and portal-portal septation in stage 2
	1	Enlarged portal tracts		
	2	Periportal fibrosis±periportal septa		
	3	Architectural distortion, but no obvious cirrhosis		
Batts-Ludwig [11]	0	No fibrosis	Simple, reproducible, validated in clinical practice Preferred for CHB and CHC	No evaluation of regression/remodeling No evaluation “beyond cirrhosis”
	1	Portal/periportal fibrosis		
	2	Septal fibrosis		
	3	Bridging fibrosis with architectural distortion		
METAVIR [12]	0	No fibrosis	Simple, reproducible, validated in clinical practice Extensively used	All systems appoint “numerical” scores to each stage Inappropriate use of numerical calculations for a continuous variable No evaluation of regression/remodeling No evaluation “beyond cirrhosis”
	1	Portal fibrosis without septa		
	2	Few septa		
	3	Numerous septa without cirrhosis		
Ishak <i>et al</i> [15]	0	No fibrosis	Preferred for research purposes Still reproducible and validated in clinical practice 7-tier scale has more discriminant descriptive power	Increased inter- and intra-observer variability
	1	Expansion of some portal areas with or without septa		
	2	Expansion of most portal areas with or without septa		
	3	Expansion of most portal areas with portal-portal bridging		
	4	Expansion of most portal areas with portal-portal and portal-central bridging		
	5	Bridging with occasional nodules		
Laennec [16]	0	No fibrosis	Sub-staging of cirrhosis Histologic substages of cirrhosis are related to clinical cirrhosis stages	Limited validation Does not address disease etiology Overlapping features within stage 3-4 related to septal thickness
	1	Minimal fibrosis		
	2	Mild fibrosis		
	3	Moderate fibrosis		
	4A	Cirrhosis, mild or probable		
Brunt <i>et al</i> [13]	0	No fibrosis	Developed for NASH Evaluation of central-based fibrosis	Cannot be applied in simple NAFLD Cannot be applied in pediatric NAFLD No evaluation “beyond cirrhosis”
	1	Zone 3 (perisinusoidal, focal or extensive)		
	2	Zone 3 as above and focal/extensive portal-based fibrosis		
	3	Same as 1 or 2 with bridging fibrosis		
Kleiner <i>et al</i> [14]	0	As per Brunt <i>et al</i> [13] but stage 1 is further subdivided in	Covers the whole spectrum of NAFLD, including simple NAFLD Can be applied to pediatric and some cases of obesity-related NAFLD	No evaluation “beyond cirrhosis” 5-tier scale has less discriminative power
	1	1a: delicate zone 3 sinusoidal/pericellular fibrosis (z3s/pf)		
	2	1b: dense z3s/pf		
	3	1c: portal fibrosis only		
4				

CHB, chronic hepatitis B; CHC, chronic hepatitis C; NAFLD, nonalcoholic fatty liver disease; NASH, nonalcoholic steatohepatitis

Figura 8. Exemplos de estadiamentos histológicos para a fibrose hepática. A figura mostra as graduações, características e limitações de alguns escores. Fonte: ALMPANIS; DEMONAKOU; TINIAKOS, 2016.

Tabela 1. Escore de NAS (Non-alcoholic Fatty liver disease Activity Score)

Parâmetro	Categoria	Pontos
Esteatose acometendo hepatócitos	< 5%	0
	5 - 33%	1
	34 - 66%	2
	> 66%	3
Balonização de hepatócitos	Nenhuma	0
	Poucas células	1
	Muitas células (balonização proeminente)	2
Inflamação lobular	Nenhuma	0
	< 2 focos/200x	1
	2 - 4 focos/200x	2
	> 4 focos/200x	3
Grau de fibrose hepática	Ausente	0
	Fibrose perisinusoidal ou periportal	1
	Leve, zona 3, perisinusoidal	1a
	Moderado, zona 3, perisinusoidal	1b
	Fibrose portal/periportal	1c
	Fibrose perisinusoidal e portal/periportal	2
	Acentuada, fibrose com septações	3
Cirrose hepática	4	

Já a classificação ou sistema de escore Laennec (tabela 3) é uma subclassificação histológica para fibrose hepática de grande importância utilizada em contexto de pacientes infectados pelo vírus da hepatite C (VHC) e que desenvolveram tal condição. Baseado em uma modificação da escala de METAVIR ela é graduada em sete níveis diferentes. São eles: 0 quando não há fibrose definida; 1 quando a fibrose é mínima (raros septos finos ou ausentes); 2 se a fibrose é leve (alguns septos finos ocasionais); 3 quando a fibrose é moderada (moderados septos finos); 4A se cirrose leve, provável ou definida; 4B quando a cirrose é moderada (pelo menos dois septos largos); e 4C (figura 9) quando a cirrose é severa (muitos nódulos minúsculos ou pelo menos um septo muito largo) (KIM et al., 2011).

Alguns estudos transversais, de Kutami e colaboradores, fizeram a correlação do sistema de Laennec com o grau da hipertensão portal e o estágio clínico da hepatopatia. E um estudo prospectivo, de Kim e colaboradores, fez a associação do escore com o risco de eventos relacionados ao fígado, tais como descompensação hepática, carcinoma hepatocelular e óbito; funcionando assim como método útil no manejo clínico de pacientes com cirrose (KIM et al., 2012).

Atualmente um diagnóstico histológico isolado de cirrose pode se mostrar inadequado, tendo-se em vista o aspecto heterogêneo da condição. Já que a subclassificação histológica da cirrose apresenta aspecto relevante em função do tratamento a ser recebido pelo paciente

(RASTOGI et al. 2013).

Após ampla pesquisa na literatura não foram encontrados dados acerca do emprego do escore histológico de Laennec para pacientes em contexto clínico de DHGNA ou EHNA.

É interessante dizer que resultados clínicos na doença hepática tendem a se correlacionar com esses sistemas histológicos. Em todos eles a cirrose (como estágio METAVIR F4, estágio Batts-Ludwig 4, estágios Ishak 5–6) é mais fortemente associada à morbimortalidade, e portanto é o estágio mais importante (BARR et al., 2016)

No entanto, é preciso ressaltar que os sistemas de graduação histológica para fibrose hepática possuem limitações. Esses sistemas descrevem alterações na arquitetura hepática, mas não fazem referência a cerca das alterações quantitativas do colágeno conforme a progressão ou regressão da doença (CALVARUSO et al., 2009).

Tabela 2. Escore histológico de Laennec.

Stage	Name	Septa (thickness and number)	Criteria	score
0	No definite fibrosis			0
1	Minimal fibrosis	+/-	No septa or rare thin septum; may have portal expansion or mild sinusoidal fibrosis	1
2	Mild fibrosis	+	Occasional thin septa; may have portal expansion or mild sinusoidal fibrosis	2
3	Moderate fibrosis	++	Moderate thin septa; up to incomplete cirrhosis	3
4A	Cirrhosis, mild, definite, or probable	+++	Marked septation with rounded contours or visible nodules Most septa are thin (one broad septum allowed)	4
4B	Moderate cirrhosis	++++	At least two broad septa, but no very broad septa and less than half of biopsy length composed of minute nodules	5
4C	Severe cirrhosis	+++++	At least one very broad septum or more than half of biopsy length composed of minute nodules (micronodular cirrhosis)	6

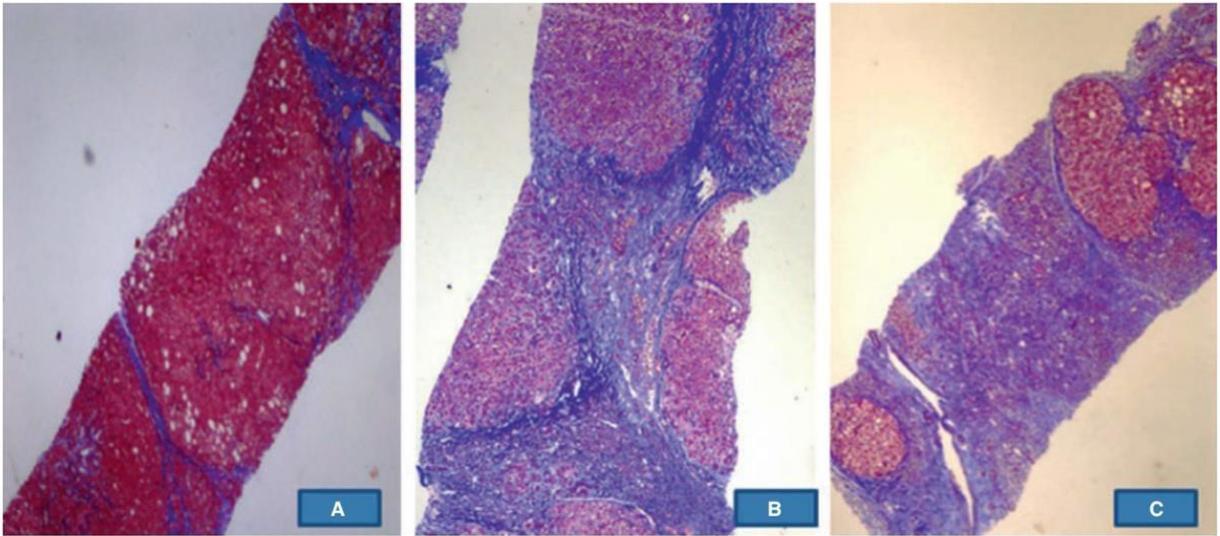


Figura 9. Escore histológico de Laennec para estágio de cirrose. 4A (nódulos visíveis com septo fibroso fino), 4B (exibindo três septos fibrosos largos), 4C (exibindo septos muito largos com mais da metade da biópsia composta por micronódulos). Fonte: Rastogi et al., 2013.

2.6.3 Morfometria

No âmbito da histopatologia há uma outra forma menos utilizada na prática médica de avaliação de maneira quantitativa das áreas de fibrose hepática nas amostras de biópsia. Ela se dá por meio da morfometria ou também chamada Análise Digital de Imagens (ADI) utilizando-se as colorações como a de sirius red (BEHAIRY et al., 2016).

O sirius red identifica primariamente o colágeno. A intensidade da coloração ocorre de maneira proporcional com a quantidade de colágeno e a fibrose hepática é determinada morfometricamente. Os cálculos são feitos a partir de imagens digitalizadas. (CALVARUSO et al., 2009).

Ela fornece então uma tentativa de padronização, de maneira objetiva, da fibrose. É calculada a partir das regiões com colágeno e o parênquima hepático remanescente. É feita uma proporção da amostra que é área de proporção do colágeno (APC) (figura 10). Nota-se que existe uma tendência de correlação direta entre a APC e a rigidez hepática, o gradiente de pressão hepática venosa e outros marcadores séricos de fibrose hepática (HALÁSZ et al., 2016). No que diz respeito ao aspecto técnico a medição pode sofrer variações tais como procedimentos de coloração, tamanho da amostra, experiência do operador e software ou programa de análise de imagem (WANG; HOU J, 2015).

Uma vantagem ou proposta da morfometria é reduzir ou evitar grandes variações intra e interobservadores na análise histopatológica. Além disso, estudos que utilizam métodos

semi- quantitativos na avaliação da fibrose, podem ser métodos imprecisos. Dessa maneira, acredita-se que a análise morfométrica seja um método promissor e considerado como ferramenta auxiliar (CANTADORI et al., 2013).

A morfometria tem sido então explorada na tentativa de detecção de alterações sutis da quantidade de fibrose hepática. Assim diversos estudos clínicos que tratam sobre esse tema, de diversas etiologias, estão sendo empregados. Sendo que a maioria destes dizem respeito à hepatite C e mais recentemente existe um interesse crescente na DHGNA e na doença hepática gordurosa alcoólica (DHGA) (WANG; HOU J, 2015).

Os estudos de Xu e colaboradores descobriram que o valor de APC não era sensível o bastante para diferenciar a fibrose leve de significativa, mas se comporta de maneira linear associada à progressão da fibrose para o estágio final. Outros relataram que os valores se correlacionaram-se bem com a pontuação de todas as categorias histológicas de fibrose leve a avançada (WANG; HOU J, 2015).

Portanto, o uso da morfometria precisa ser melhor validado e explorado nas doenças hepáticas crônicas. E as metodologias que são utilizadas para aprimorar o padrão-ouro, no caso a biópsia hepática, estão sendo muito estudadas (WANG; HOU J, 2015).

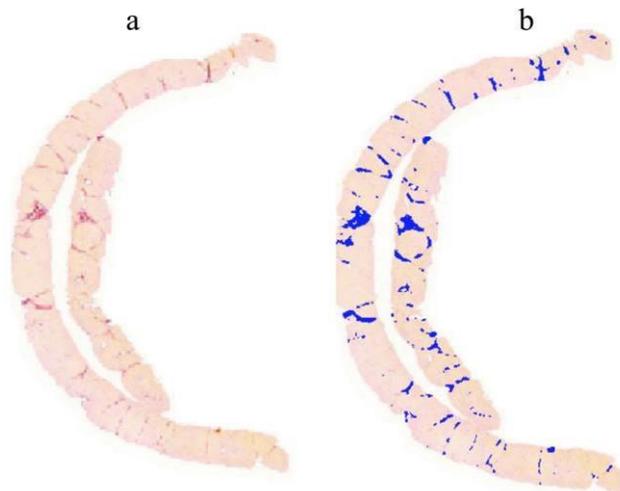


Figura 10. Exemplo de Área Proporcional de Colágeno (APC). Áreas de toda a amostra e tecido fibrótico foram medidas. A extensão da fibrose é expressa pela proporção destes: a- picrosirius red; b- colágeno proporcional destacado em azul por técnica morfométrica. Fonte: Modificada de Rastogi et al., 2013.

2.7 Métodos não invasivos

Quanto a abordagem na DHGNA por métodos não-invasivos existem duas possíveis formas diferentes, sendo uma “física” em que se estima a rigidez hepática, como as técnicas de elastografia hepática transitória (ET) com ultrassom ou ressonância magnética (CASTÉRA et al., 2010; CASTERA; FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019), e uma a partir de amostras “biológicas” com quantificação de biomarcadores no soro, plasma ou DNA/miRNAs (LISBOA et al., 2020; ROMEO et al., 2008; SOOKOIAN et al., 2020).

A rigidez é uma propriedade inerente do parênquima hepático. Já os biomarcadores exibem parâmetros clínicos e por vezes séricos. E não obrigatoriamente relacionados ao fígado, mas que podem ser relacionados à EHNA ou a algum grau de fibrose hepática, conforme avaliado por biópsia. E mesmo que muitos métodos não-invasivos para avaliação tenham sido criados, somente alguns fornecem evidências robustas de validação externa, por exemplo, a elastografia hepática transitória (ET) (CASTERA;FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019), as moléculas citoqueratina-18 (FELDSTEIN et al., 2009), osteopontina (BRUHA; VITEK; SMID, 2020), alguns marcadores associados à inflamação, como a CXCL10 (ZHANG et al., 2014) e adipocitocinas (AJMERA et al., 2017; YOUNOSSI et al., 2008) e polimorfismos genéticos relacionados à gravidade da doença, como os genes PNPLA3 e TM6SF2 (LISBOA et al., 2020; ROMEO et al., 2008).

Já os exames que utilizam imagem para tentativa de detecção de depósitos de gordura como ultrassom, tomografia computadorizada e ressonância magnética vem sendo bastante estudados em anos recentes. (CASTÉRA et al., 2010).

Apesar do aparecimento de novas tecnologias em imagem e de suas limitações, a ultrassonografia ainda é o método mais utilizado para avaliar esteatose hepática em ambientes ambulatoriais devido à sua melhor disponibilidade, possibilidade de realização na beira do leito, poder ser empregada como triagem em grandes populações não selecionadas e custo mais baixo em relação à ressonância magnética (HERNAEZ et al., 2011; WONG et al., 2018;).

A ressonância magnética é mais precisa para detectar e classificar pacientes com DHGNA, mas com limitações quanto ao custo e disponibilidade. Ainda que a ultrassonografia seja o método inicial mais empregado na investigação ou rastreio apresenta sensibilidade menor que 20%. (CASTERA; FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019; MAURICE; MANOUSOU, 2018)

No que diz respeito às amostras biológicas, as transaminases ALT e AST, são as

principais e geralmente usadas como um marcador inicial para lesão hepática. No entanto, inúmeros estudos indicam que elas não sejam um biomarcador ideal para diagnóstico da DHGNA ou diferenciação da EHNA e ESNA. Sendo que muitos indivíduos não apresentam alterações importantes nos níveis dessas enzimas quando em fases precoces, mas ainda assim podem ser úteis (CHALASANI et al., 2012, 2018; EASL–EASD–EASO, 2016; YOUNOSSI et al., 2018).

Existem também diversos escores clínicos para a tentativa de predição de esteatose hepática tais como Fatty liver index, Hepatic steatosis index e Steato Test; e fibrose avançada como AST:ALT Ratio e AST:platelet ratio index (APRI). Alguns foram propostos inicialmente para outras doenças hepáticas crônicas e depois adaptados para EHNA como Fibrosis-4 index (FIB-4), Enhanced Liver Fibrosis; e outros já específicos para DHGNA tais como o NAFLD fibrosis score e BARD score (WONG et al., 2018).

Todos esses escores clínicos tentam diagnosticar EHNA baseados na predição de fibrose importante e presumem que aqueles com suspeita para DHGNA e fibrose apresentam EHNA. No entanto, nenhum desses escores juntamente com testes elastográficos são capazes de determinar, precisamente, se a lesão hepática e a fibrose predita são de fato causadas pela DHGNA ou a outra doença hepática subjacente; ou também se a fibrose no fígado suposta pelo teste não está superestimada (CASTERA; FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019; FEDCHUK et al., 2014; WONG et al., 2018). Mas apesar do desempenho desses biomarcadores combinados ou sozinhos serem considerados, por vezes, modestos quando comparados com exames de imagem, eles podem ser utilizados em bancos de dados retrospectivos para estudos epidemiológicos (AJMERA et al., 2017).

Devido a importante prevalência de DHGNA e considerando os riscos e limitações da biópsia hepática, métodos não-invasivos para diagnosticar e estadiar a condição se tornam necessários. O teste ideal seria reproduzível, barato e capaz de diagnosticar e subclassificar a DHGNA incluindo a fibrose quando presente (WONG et al., 2008).

De fato muito se progrediu em relação à avaliação não invasiva na doença hepática em pacientes com DHGNA. No entanto, deve ser utilizada de acordo com a necessidade clínica como triagem, acompanhamento e estadiamento da fibrose de cada paciente levando-se em conta também o estabelecimento de saúde, tais como atenção primária ou centros de saúde especializados (CASTERA; FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019).

Em relação a exames séricos não existe nenhum disponível que seja altamente sensível e específico para diferenciar, de forma segura, a ESNA da EHNA, assim como os exames de imagem. Mas a evidências sugerem que marcadores séricos e rigidez hepática avaliada por ET

podem identificar com precisão o subgrupo de pacientes com DHGNA com maior risco de complicações com o fígado (CASTERA; FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019).

Pode se concluir então que nenhum desses métodos substitui os achados da biópsia hepática apesar dos avanços observados. Portanto, novas metodologias são necessários para se obter um teste ideal não invasivo em diagnosticar a DHGNA e estadiar EHNA.

2.7.1 Elastografia

A elastografia é um dos métodos não invasivos mais promissores. É utilizada principalmente na tentativa de avaliar se há fibrose avançada ou não, em pacientes com EHNA e hepatites crônicas virais (BARR et al 2015; ANSTEE et al., 2019).

Existem duas modalidades técnicas na elastografia. Uma que utiliza ultrassom e outra que utiliza ressonância magnética. O primeiro método usa o ultrassom para detectar a velocidade de ondas de cisalhamento induzidos no parênquima hepático. Já o segundo usa um scanner de ressonância magnética na qual vibrações são transmitidas a partir de um dispositivo na parede abdominal para o diafragma e parênquima hepático. Por meio de determinadas sequencias de imagem a progressão dessas vibrações podem ser detectadas e a velocidade de progressão se correlaciona com a elasticidade do fígado (CASTERA; FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019).

Existem também diferentes tipos de elastografia por ultrassom, sendo as principais para o estudo do fígado a elastografia 2D-SWE (Two Dimensional Shear Wave), a p-SWE (Point Shear Wave) e a elastografia hepática transitória (ET). As novas modalidades como a elastografia de onda de cisalhamento pontual (pSWE), inclui imagem de impulso de força de radiação acústica (IFRA). A técnica p-SWE consiste na medida da velocidade de propagação de ondas de cisalhamento no fígado. Um IFRA é gerado numa determinada região de interesse e não necessita de estímulo vibratório. Na técnica 2D-SWE são feitas múltiplas medições com o IFRA em um grande campo de visão e pode ser feito em imagem em tempo real (CASTERA; FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019; SILVA et al. 2019).

Já a ET, controlada por vibração, é a técnica pioneira baseada em ultrassom e é a mais utilizada. A mesma é caracterizada por se rápida, reprodutível e com a finalidade de mensurar a rigidez hepática utilizando-se de uma sonda padrão (probe) na topografia do lobo direito hepático/espaco intercostal direito. Essa rigidez é avaliada de diferentes formas a depender da técnica utilizada. Em uma das modalidades desse exame, o aparelho Fibroscan® (Echosens,

França) avalia a rigidez hepática expressa em quilo-pascals (Kpa) de forma acessória a um aparelho baseado na ultrassonografia (BEHAIRY et al., 2016).

O FibroScan® foi o primeiro dispositivo desenvolvido para medir a elasticidade hepática como alternativa à biópsia. É dedicado exclusivamente à análise da fibrose hepática, sem outras finalidades diagnósticas. Ele é configurado para avaliar o parênquima hepático com volume de 1 x 2 cm e a 25-65 mm da pele. Isso significa aproximadamente 1/500 do volume hepático e uma extensão bem maior quando se comparado com os obtidos por biópsia hepática (1/50000) (CARDOSO; MENDES; FILHO, 2012).

A sonda gera vibrações de baixa amplitude e pequena frequência e que são transmitidas pelo transdutor ao fígado. Simultaneamente, o sistema do ultrassom gera pulsos que permitem acompanhar e avaliar a velocidade dessas ondas que se propagam no interior do tecido. Quanto maior a fibrose ou enrijecimento hepático, menor a velocidade da onda de propagação. Esse transdutor tem frequência superior as utilizadas em ultrassonografias convencionais (3,5MHz) (CARDOSO; MENDES; FILHO, 2012).

A imagem deve ser avaliada quanto a propagação uniforme e linearidade da onda de cisalhamento. Um software avalia se cada medição é válida ou não. O aparelho não retorna um valor de rigidez se uma aquisição de informações não for bem sucedida. E se mais de 10 tentativas forem feitas o exame é considerado falho (BARR et al., 2015).

Quanto a técnica, o paciente fazendo inspiração profunda ou manobra de Vasalva, deita em decúbito dorsal a 30 graus ou em posição supina com a mão posicionada sobre a cabeça para aumentar a janela acústica intercostal, sendo o probe também colocado nessa região. O melhor posicionamento é aquele com maior profundidade e janela acústica quando o pulso é perpendicular a capsula do órgão, reduzindo assim a refração. E ainda que a melhor janela acústica seja obtida, múltiplas medidas na mesma área devem ser obtidas (BARR et al., 2015). Um valor de Kpa mais elevado revela um fígado com maior rigidez, o que pode se traduzir em fibrose hepática mais grave ou avançada (BEHAIRY et al., 2016). Os valores do Fibroscan® compreendem a faixa de 2,5 a 75,0 Kpa, sendo que os resultados ficam rapidamente disponíveis para o avaliador. O valor final e a medida das aquisições obtidas são consideradas como a expressão da elasticidade do fígado (CARDOSO; MENDES; FILHO, 2012).

De acordo com revisões literárias, 10 medidas são recomendadas e obtendo-se a média entre elas. Sendo que pelo menos 60% das amostras sejam consideradas satisfatórias ou adequadas (BARR et al., 2015).

Para se avaliar a qualidade dos dados deve se usar o IQR ou faixa interquartil, também

chamada de “meio dos cinquenta”. é uma medida da dispersão estatística igual à diferença entre os quartis superior e inferior. Um valor IQR dividido pela mediana e se inferior a 0,30 sugere um bom conjunto dos dados. Naqueles pacientes em que o valor da ET é menor que a 7,1 Kpa, o IQR não afeta a precisão e pode ser utilizado para monitorar a qualidade de quem examina o exame (BARR et al., 2015).

As vantagens da ET são a disponibilidade já que é usada nos consultórios dos hepatologistas, além da boa reprodutibilidade, com coeficiente de correlação intraclasse de 0,96 (77,78). Já os pontos negativos são a falta de orientação da imagem em escala de cinza para determinar onde a medição está sendo realizada, impossibilidade de avaliar grandes volumes e grandes vasos no local onde a medida é realizada e em impossibilidade de realização em pacientes com líquido ascítico. O aparelho também necessita de recalibração em intervalos de seis a 12 meses (BAAR et al., 2015).



Figura 11. Aparelho Fibroscan® (Echosens, França).

2.7.2 Escores clínicos preditores de fibrose

Como já mencionado, inúmeros escores clínicos foram elaborados para a tentativa de prever a esteatose hepática como o Fatty liver index, Hepatic steatosis index e Steato Test e também para fibrose avançada tais como AST:ALT Ratio e APRI. Alguns foram utilizados

para o contexto de DHGNA como BARD score e NAFLD fibrosis score e outros utilizados inicialmente para outras doenças do fígado como o FIB-4 e Enhanced Liver Fibrosis (WONG et al., 2018).

Dentre eles o APRI e o FIB-4 foram inicialmente utilizados para pacientes com infecção por HCV em estágio crônico com fibrose. Mas muitos estudos demonstraram também a utilidade desses dois escores na avaliação da fibrose no contexto de DHGNA (PELEG et al., 2017).

Diferentemente da pontuação de fibrose no NAFLD fibrosis score que se baseia em variáveis clínicas, a pontuação do APRI utiliza valores laboratoriais de AST e na contagem de plaquetas. No entanto, uma atividade inflamatória leve nos pacientes com DHGNA pode gerar níveis menores de AST se comparado aqueles com infecção por HCV. Assim pode ocorrer um escore numérico desproporcionalmente pequeno para um determinado estágio de fibrose (PELEG et al., 2017).

Um estudo encontrou em pacientes com DHGNA, hipertensão portal em 12% dos que não possuíam ou apresentavam fibrose leve na biópsia. Assim uma parte dos pacientes com DHGNA pode apresentar um baixo numero de plaquetas e sem fibrose avançada gerando assim um APRI alto em relação ao estágio verdadeiro de fibrose (PELEG et al., 2017).

O APRI é um método simples na tentativa de prever fibrose acentuada. É calculado usando o valor de AST do paciente, corrigido para o limite superior da normalidade e plaquetas. Uma metanálise sugere que um valor igual ou maior a 0,7 tem sensibilidade estimada de 77% e especificidade de 72% para a detecção de fibrose hepática moderada (por exemplo, METAVIR F2) em pessoas com infecção por HCV crônica. Uma nota igual ou maior a um apresenta sensibilidade estimada de 61 a 76% e especificidade de 64 a 72% para prever fibrose acentuada (por exemplo, METAVIR F3 a F4). Para detecção de cirrose, uma nota de corte de pelo menos 2,0 foi mais específica (91%), mas menos sensível (46%) (COX-NORTH, 2021).

Geralmente, o APRI é bom para prever fibrose acentuada ou cirrose ou baixo risco de fibrose significativa, mas não diferencia com precisão os estágios intermediários. Logo deve ser usado em conjunto com outros métodos para avaliação de fibrose e não de maneira isolada (COX-NORTH, 2021).

Peleg e colaboradores concluem também que os para os pacientes com DHGNA o APRI é uma ferramenta confiável para distinguir entre pacientes com fibrose avançada ou cirrose e aqueles sem fibrose. No entanto, para o estágios intermediários não pode ser usada de maneira precisa, sendo o FIB-4 a melhor opção para esses estágios (PELEG et al., 2017).

O FIB-4 também se mostrou promissor principalmente para excluir a fibrose avançada. Logo, é útil para estratificar o risco de pacientes com DHGNA para investigação adicional, sendo amplamente usado na atenção primária e secundária para avaliar a fibrose em pacientes com enzimas hepáticas anormais e suspeita de DHGNA (MCPHERSON, 2017). Um valor no limite inferior a 1.45 apresenta sensibilidade de 74% e um valor preditivo negativo de 95% para excluir fibrose acentuada. Um valor acima de 3.25 tem um valor preditivo positivo para fibrose avançada entre 65 a 82% e com especificidade de 98% na confirmação de cirrose. Entretanto valores entre 1,45 e 3.25 não discriminam totalmente a fibrose (site).

Como já mencionado, os níveis de AST e ALT podem não estar alteradas ou elevadas nos pacientes com DHGNA ou EHNA e não devem ser usadas como método de triagem de maneira independente.; Nos indivíduos saudáveis a relação AST/ALT tende a ser menor que um. Nos pacientes que apresentam esteatose, a relação começa a aumentar devido ao aumento dos valores de AST principalmente; em contraste com a doença hepática de etiologia alcoólica em que ocorre uma razão geralmente acima de dois (PAREDES et al., 2012; SILVA et al., 2019).

Ainda no contexto de DHGNA e EHNA uma relação AST/ALT maior que um pode sugerir uma fase de fibrose avançada, sendo um modelo preditivo mais simples para fibrose e de acordo com alguns autores apresenta um bom valor preditivo negativo (ALKHOURI, N; MCCULLOUGH, A., 2012).

2.8 Justificativa

Considerando a importância da fibrose no contexto de EHNA, sendo que a mesma é o único fator prognóstico validado para morbimortalidade, o estudo da morfometria para avaliação como método quantitativo e o escore de Laennec como semiquantitativo assumem especial importância na busca ou tentativa de melhor manejo da condição.

3 OBJETIVOS PROPOSTOS

3.1 Geral

Comparar o grau da fibrose hepática avaliada por métodos semiquantitativos (escores histológicos), quantitativo (morfometria), elastográfico e escores clínicos preditores de fibrose (FIB-4, APRI score e AST/ALT ratio) em pacientes com diagnóstico de EHNA.

3.2 Específicos

- 3.1.1 Avaliar o grau de fibrose hepática pelo escore histológico de NAS.
- 3.1.2 Avaliar o grau de fibrose hepática pelo escore histológico de Laennec.
- 3.1.3 Comparar os graus de fibrose hepática pelos escore histológicos de NAS e Laennec.
- 3.1.4 Avaliar o grau de fibrose hepática por método de morfometria.
- 3.1.5 Avaliar o grau de fibrose hepática pelo método de ET.
- 3.1.6 Avaliar o grau de fibrose hepática pelos escores clínicos de FIB4, APRI e razãoAST/ALT.
- 3.1.7 Comparar os diferentes métodos de avaliação de fibrose hepática entre si.

4 MATERIAIS E MÉTODOS E POPULAÇÃO ESTUDADA

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de estudo retrospectivo, observacional e bicêntrico de indivíduos com DHGNA e EHNA.

4.2 Aspectos éticos

O presente estudo atende aos aspectos fundamentais da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde que dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. O estudo está aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa do HC-UFMG (CAAE 74559317.4.0000.5149).

4.3 População estudada

Todos os indivíduos com DHGNA incluídos nesse estudo foram acompanhados / avaliados no Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica do Instituto Alfa de Gastroenterologia do HC/UFMG, sob coordenação da Prof.^a Dr.^a. Cláudia Couto, com exceção de três pacientes que foram avaliados e acompanhados pelo Prof. Dr. Guilherme Grossi no Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais (HPMMG) também em consulta ambulatorial.

O estudo é observacional, retrospectivo, de pacientes com diagnóstico de EHNA. A amostra foi feita por conveniência. Foram selecionados aqueles indivíduos com idade maior que 18 anos, com classificação histológica de fibrose moderada a acentuada (pelo escore de NAS), disponibilidade de material anatomopatológico de biópsia hepática e realização de elastografia transitória hepática em intervalo de até 25 meses entre o exame anatomopatológico (antes ou depois), mas com ampla maioria em até seis meses.

Foram excluídos pacientes com perda de acompanhamento, com outras hepatopatias crônicas conhecidas como hepatopatia alcoólicas, viral em atividade, doenças autoimunes, de depósito; comorbidades clínicas graves como insuficiência cardíaca, doença renal crônica, doença pulmonar obstrutiva crônica, neoplasias malignas ou síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).

De um total de 451 pacientes do Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica do HC/UFMG, do período compreendido entre 2009 a 2023, 21 apresentaram critérios para entrar no estudo. Para os três pacientes selecionados do HPMMG, sendo que nessa instituição não existe a contabilização de pacientes totais com quadro DHGNA e nem um ambulatório específico para a doença em questão, foram obedecidos os mesmos critérios. Todos os indivíduos incluídos foram atendidos entre 2018 a 2023.

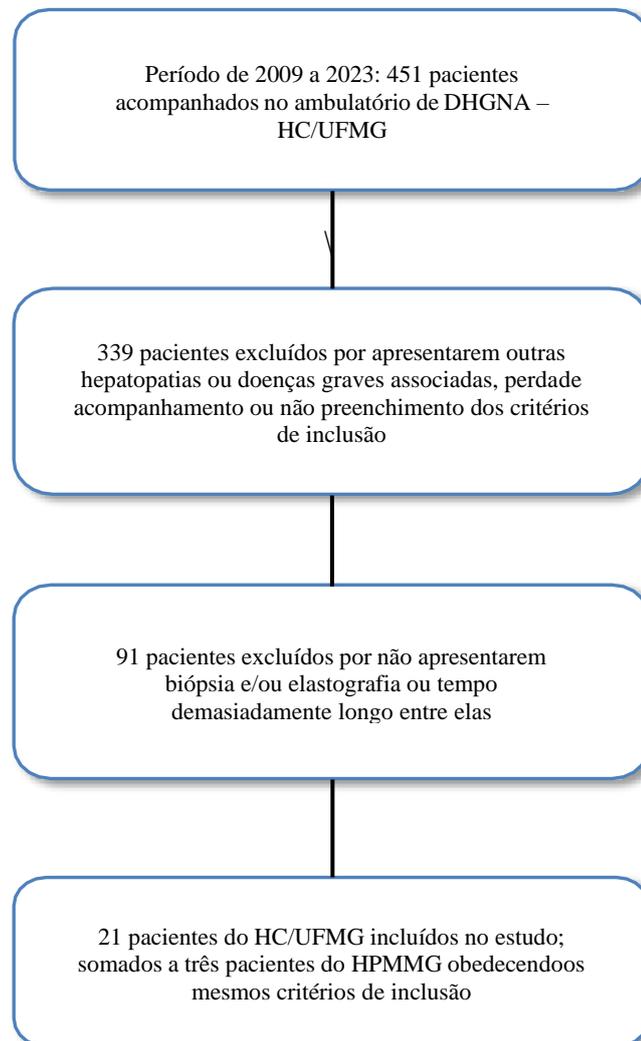


Figura 12. Fluxograma com critérios de inclusão e exclusão do estudo.

4.4 Avaliação clínica e laboratorial

Todos os pacientes incluídos no estudo apresentavam EHNA, e conseqüentemente DHGNA, foram acompanhados/avaliados clinicamente por um médico hepatologista do Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica do Hospital das Clínicas da UFMG e também por médico hepatologista no HPMMG sob rotina ambulatorial.

Na anamnese, que se constitui de exame clínico e físico, foi investigado o histórico prévio e atual de ingestão de bebidas alcoólicas. Posteriormente, foram solicitados exames laboratoriais, de acordo com a rotina de ambulatório para avaliação de glicemia jejum e perfil lipídico através das dosagens de colesterol total e frações, TG, enzimas hepáticas marcadoras de lesão aguda tais como aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltranspeptidase (GGT), hemograma com plaquetas e dentre outros quando pertinentes. Todos os exames foram realizados no laboratório de análises clínicas do HC/UFMG e HPM/MG, com o indivíduo em jejum de no mínimo 12 horas.

Os resultados foram comparados aos seus respectivos valores de referência para cada laboratório, faixa etária, gênero e utilizados na descrição das características clínicas dos indivíduos. Os exames laboratoriais utilizados no estudo foram aqueles com datas mais próximas da data da biópsia hepática, sendo em intervalo de até no máximo sete meses.

Quanto à elastografia transitória hepática foi utilizado o aparelho Fibroscan® (Echosens, França) por hepatologista com experiência prática e que desconhecia as condições clínicas e laboratoriais dos indivíduos. A rigidez hepática e parâmetro de atenuação controlada pelo fígado (CAP) foi realizada nos pacientes com pelo menos três horas de jejum.

Para avaliação hepática, os indivíduos ficaram o braço direito em abdução máxima e em decúbito dorsal. O tamanho de sonda/probe M foi utilizado em indivíduos não obesos ou com sobrepeso e o tamanho de sonda/probe XL em indivíduos obesos. Após colocar a ponta da sonda/probe com gel, ela foi colocada em topografia do lobo hepático direito na região do espaço intercostal na intersecção da linha axilar anterior com a linha que cruza o processo xifoide.

Foi considerado satisfatório quando foram realizadas 10 medidas válidas com taxa de sucesso maior ou igual 60% e com intervalo interquartil (IQR) menor que 30% do valor mediano. E o valor mediano dessas medidas definiu a rigidez hepática (CASTÉRA et al., 2010; CASTERA; FRIEDRICH-RUST; LOOMBA, 2019).

4.5 Avaliação histológica

As biópsias hepáticas foram realizadas a partir de conduta médica e propedêutica clínica e não com fins de pesquisa. Foram feitas por médico treinado do HC/UFMG e HPMMG, cada qual utilizando-se de seu protocolo para punção guiada por um ultrassom tentando-se obter uma amostra macroscopicamente representativa e satisfatória. Em seguida o material foi colocado imediatamente em frasco, devidamente identificado com os dados de cada indivíduo, em formalina a 10% na proporção de 1:10 (volume do fragmento/volume de formol) para que o espécime fosse bem fixado e por pelo menos 24 horas para evitar possíveis artefatos pré- analíticos como o de autólise ou esmagamento.

Posteriormente cada material foi submetido a processamento histológico de rotina em aproximadamente 12 horas (desidratação em álcool e xilol) e posteriormente incluído em blocos parafina. Em seguida foram realizados cortes de aproximadamente três a cinco micrômetros (μm) de espessura e coloração com hematoxilina-eosina e picrosirius (todos de mesma marca) para interpretação e avaliação do patologista. O processo foi realizado no HC/UFMG no Departamento de Anatomia Patológica e do HPM/MG em um laboratório terceirizado (Analys Patologia), sendo que todas as lâminas externas foram confeccionadas a partir dos blocos de parafina originais no Departamento de Anatomia Patológica do HC/UFMG para padronização da amostragem.

Todas as lâminas de biópsias foram revisadas por um patologista experiente em biópsias hepáticas do Departamento de Anatomia Patológica do HC/UFMG e sem conhecimento prévio dos dados/laudos dos indivíduos, de modo a garantir o cegamento das amostras, para a graduação histológica de Laennec. Os achados histológicos iniciais da análise do primeiro patologista foram mantidos e estes usados para os critério de inclusão no estudo a partir de fibrose moderada pelo escore de NAS.

4.6 Análise morfométrica

Foi realizada a análise morfométrica das biópsias hepáticas utilizando a coloração Picrosirius red. As referidas lâminas foram submetidas à digitalização por meio do equipamento 3DHISTECH / Panoramic MIDI® (figura 13) utilizando o programa CaseViewer (figura 14).



Figura 13. Equipamento 3DHISTECH/Panoramic MIDI®.

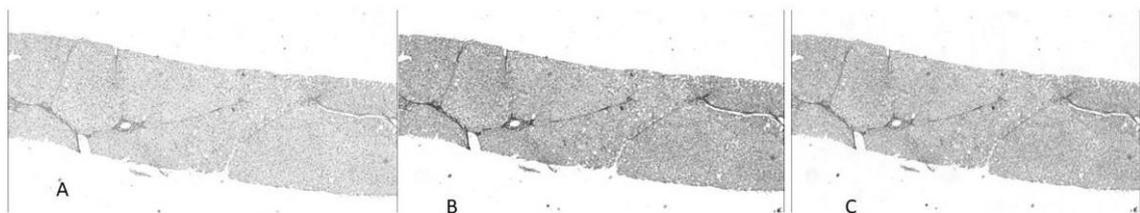


Figura 14. Exemplo de captura de segmento de lâmina com software CaseViewer com aumento

Os slices das lâminas foram analisados a partir de um software de processamento de imagens, ImageJ®, e com o auxílio de um plug-in específico (Manual Thresholding – figura 15). O software foi configurado para delimitar a área total ocupada por células e elementos de interesse, a fim de calcular a área total da lâmina e a área ocupada por colágeno (corado em vermelho pelo corante Picrosirius red).

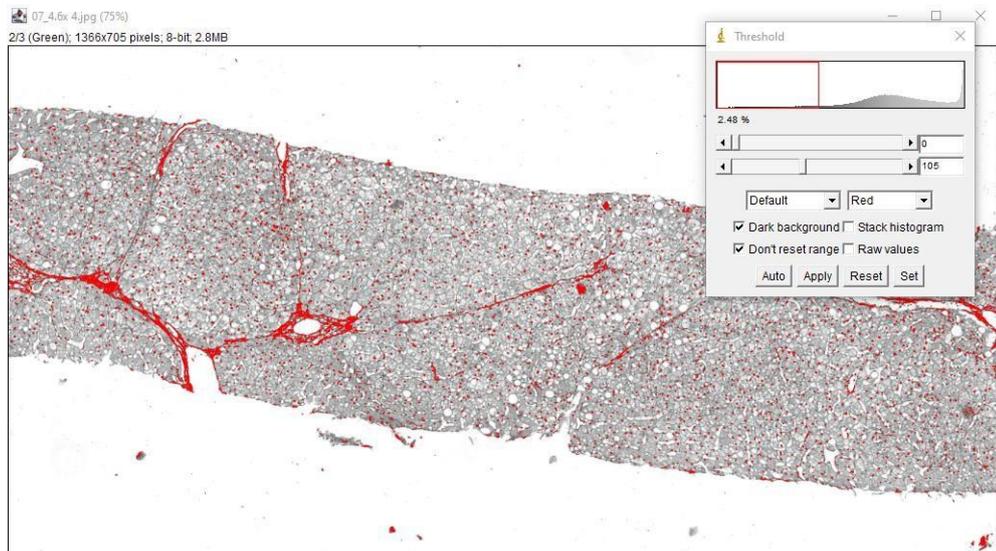


Figura 15. Plug-in Manual Thresholding para a área total ocupada.

Para realizar as medições, o software foi previamente calibrado utilizando uma régua ou sistema de calibração definida durante a captura das imagens dos slices (Figura 16). As imagens foram analisadas quanto à presença de artefatos que pudessem interferir na análise. Quando encontradas imperfeições as mesmas foram recortadas da imagem para aumentar a precisão.

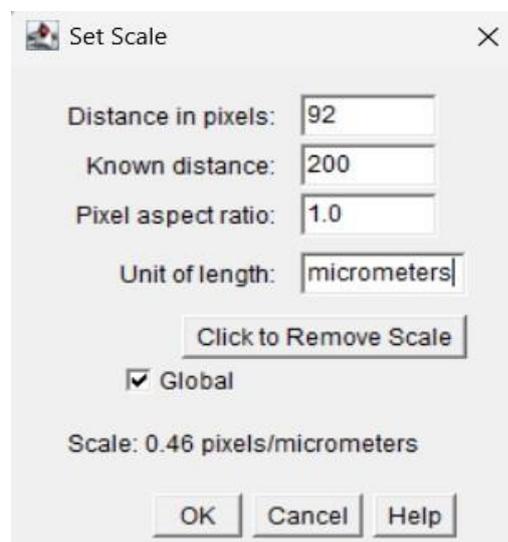


Figura 16. Calibração do sistema com alça disponível durante a produção dos slices das lâminas.

Cada slice foi dividido em três espectros de cores (vermelho-verde-azul) utilizando o plug-in RGB Stack. O verde foi selecionado por apresentar o melhor contraste entre o citoplasma das células e a área ocupada por colágeno. Em seguida, o Thresholding foi configurado para destacar as áreas de colágeno no intervalo de zero até um limiar superior, variando de 90 a 130. Através da função "Set Measurements" e com a opção de "área fraction" ativada obteve-se a área percentual de colágeno em relação à área total da imagem (Figuras 17 e 18).

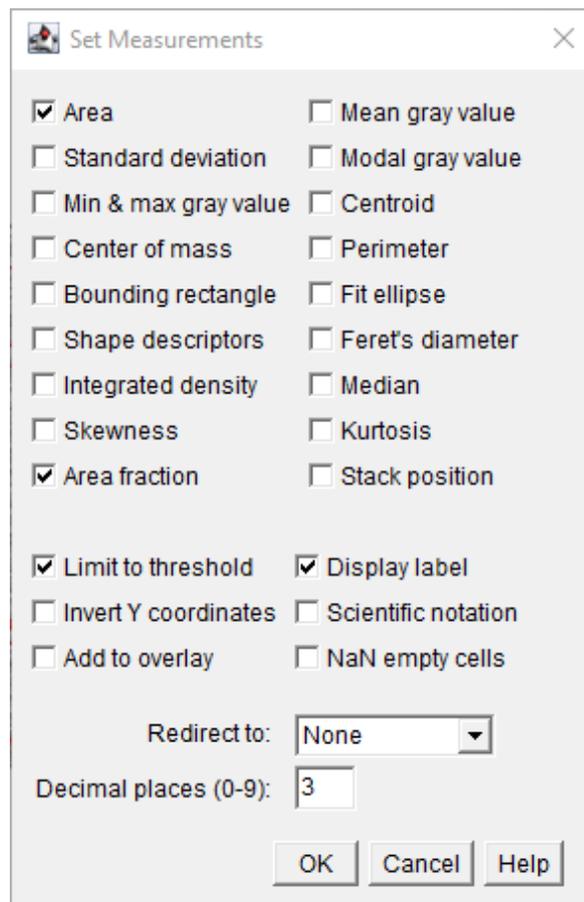
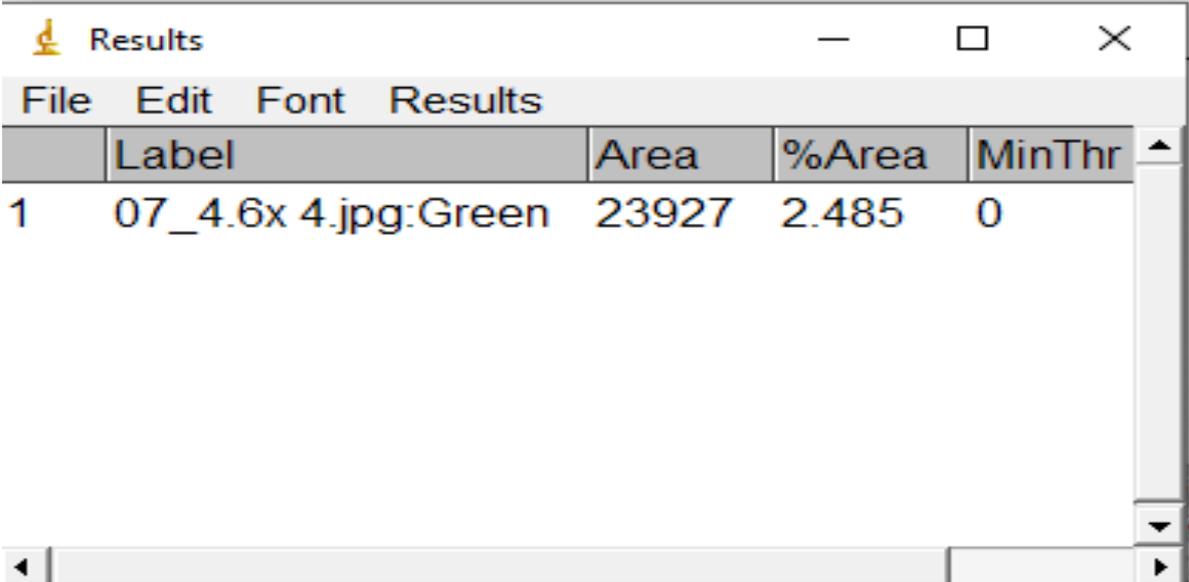


Figura 17. A opção "área fraction" selecionada na função "Set Measurements"



The image shows a software window titled "Results" with a menu bar containing "File", "Edit", "Font", and "Results". Below the menu bar is a table with the following data:

	Label	Area	%Area	MinThr
1	07_4.6x 4.jpg:Green	23927	2.485	0

Figura 18. Exemplo de resultado obtido pela função "Set Measurements"

Posteriormente, o mesmo processo foi repetido para destacar a área total de tecido da lâmina, fornecendo a relação entre a área total da lâmina e a área total da imagem. Este procedimento foi realizado para cada slice de cada lâmina e os resultados foram agregados em uma tabela, na qual as frações de área de colágeno e de área total foram somadas. Finalmente, a área percentual de colágeno foi obtida pela divisão entre a soma das frações de área de colágeno e a soma das frações de área total.

4.1 Escores clínicos não-invasivos preditores de fibrose

Os escores clínicos não-invasivos preditores de fibrose foram avaliados para cada paciente e com suas respectivas fórmulas descritas abaixo. Sua escolha se deu pela praticidade entre os exames laboratoriais disponíveis, sendo que outros escores clínicos para a mesma finalidade necessitam de parâmetros que não estavam presentes ou disponíveis em todos os prontuários dos pacientes selecionados.

Foram utilizadas calculadoras em plataformas digitais como as disponibilizadas em www.mdcalc.com

FIB-4 Score = $(\text{idade} \times \text{AST}) / (\text{Plaquetas} \times \sqrt{\text{ALT}})$

APRI escore = $[(\text{AST}/\text{limite superior de normalidade para AST}) \times 100] / \text{Plaquetas}$.

AST/ALT ratio = razão AST/ALT propriamente dita.

4.8 Análise estatística

Para avaliar se existe diferença estatisticamente significativa entre dois grupos de pacientes, com e sem cirrose, (com base no escore de Laennec) e variáveis como idade, tempo entre biópsia e elastografia, ET, FIB-4, APRI, morfometria e razão AST/ALT o teste não paramétrico de Mann-Whitney foi empregado.

Com o objetivo de investigar a associação entre duas variáveis do tipo categórica, o teste Exato de Fisher (similar ao teste Qui-quadrado de Pearson - teste não-paramétrico) foi aplicado aos dados. Já para investigar se existe ou não relação entre as categorias ordinais as análises de V de Crammer e Tau c de Kendall foram utilizadas.

Na investigação, se existe ou não relação, entre as medidas do escore Laennec e demais variáveis relacionadas (ET, FIB-4, APRI, Razão AST/ALT, idade, morfometria) a presença ou não de cirrose nos pacientes, em pares, foi feita Análise de Correlação de Spearman (Teste não- paramétrico).

Foi realizada uma análise de Curva ROC com o objetivo de avaliar a sensibilidade e a especificidade do ponto de corte para as variáveis idade, ET, FIB-4, APRI, morfometria e Razão AST/ALT que melhor discrimina um paciente COM cirrose.

Para averiguar se existe diferença entre os três níveis do escore de Laennec dos pacientes COM cirrose quanto às medidas das variáveis ET, FIB-4, APRI, Razão AST/ALT, idade e morfometria, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi aplicado aos dados.

Foram calculados os tamanhos de efeito, indicados para o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, para cada uma das conclusões apresentadas. Ressalta-se que foram utilizados testes estatísticos não-paramétricos devido ao pequeno tamanho amostral da presente pesquisa. O SPSS 26.0 foi o software utilizado para todas as análises estatísticas realizadas.

5 RESULTADOS

5.1 Descrição da amostra e dos pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável de interesse

Os pacientes do estudo eram em sua maioria mulheres (22) e uma minoria homens (2). A média de idade foi de aproximadamente 60 e mediana de 61 anos. O paciente mais jovem apresentava 36 e o mais velho 75 anos.

A maioria dos indivíduos apresentavam critérios clínicos e laboratoriais como altos valores de IMC e dislipidemias para SM, DM II e hipertensão arterial sistêmica, mas sem outras hepatopatias crônicas associadas. Todos foram inicialmente classificados como EHNA com fibrose, pelo menos moderada, segundo o escore de NAS. Após o emprego da classificação de Laennec 15 foram qualificados como cirróticos e nove não cirróticos.

Para investigar se existe diferença entre os grupos de pacientes COM ou SEM cirrose, com base no escore de Laennec, em relação à idade e ao tempo entre biópsia e elastografia o teste não paramétrico de Mann-Whitney foi aplicado.

Como descrito na tabela 3, o resultado mostra que não existe diferença estatisticamente significativa ($p = 0,472$; $Z = 0,719$, portanto, $p \geq 0,05$) entre os pacientes COM cirrose e aqueles SEM cirrose quanto à distribuição da idade. Isso significa que os pacientes COM cirrose apresentaram uma distribuição de idade semelhante aos pacientes SEM cirrose.

Baseando-se no tamanho de efeito mostrado na tabela 3, observa-se uma correspondência entre a probabilidade de significância (p) do teste de Mann-Whitney e o tamanho de efeito obtido ($r = 0,15$) na comparação da idade entre os dois grupos de pacientes, ou seja, o resultado mostra que não existe diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) entre os pacientes COM ou SEM cirrose e seu tamanho de efeito é considerado pequeno ou desprezível ($r < 0,20$; tamanho de efeito com valor abaixo ou próximo de 0,20).

Portanto, “cl clinicamente” o tamanho de efeito da diferença entre os dois grupos é inexpressivo ou insatisfatório. Ressalta-se ainda que na aplicação de um teste não-paramétrico os valores da mediana e dos quartis exprimem melhor a comparação realizada. A figura 19 mostra esse resultado.

Na comparação entre os grupos de pacientes COM ou SEM cirrose no que diz respeito ao tempo entre biópsia e ET a interpretação do resultado é análoga ao discutido nos parágrafos anteriores. A figura 20 mostra uma melhor visualização deste resultado.

Já na investigação da associação entre duas variáveis do tipo categórica entre os pacientes COM ou SEM cirrose e o escore NAS (duas variáveis do tipo categórica), o teste Exato de Fisher (similar ao teste Qui-quadrado de Pearson - teste não-paramétrico) foi empregado. Conforme a tabela 3, existe associação estatisticamente significativa ($p = 0,013$, portanto, $p < 0,05$) entre essas duas variáveis. Sendo que, baseado nos resíduos padronizados ajustados, a porcentagem de pacientes do grupo COM cirrose e com escore NAS estágio 2 (20,0%) foi significativamente menor do que a porcentagem de pacientes do grupo SEM cirrose (77,8%), além disso, a porcentagem de pacientes do grupo COM cirrose e com escore NAS igual a 4 (40,0%) foi significativamente maior do que a porcentagem de pacientes do grupo SEM cirrose (0,0%).

Quanto ao escore NAS estágio 3 não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos de pacientes. A tabela 4 também mostra a caracterização dos dois grupos de pacientes quanto à classificação pelo escore de Laennec.

Tabela 3. Análise descritiva e comparativa entre os grupos de pacientes Com e SEM cirrose quanto à idade, tempo aproximado entre biópsia e elastografia e escores NAS e Laennec

Variável	Cirrose				GERAL	
	Sim		Não			
	N	%	N	%	N	%
Idade (anos)	(n = 15)		(n = 9)		(n = 24)	
<i>Média ± d.p</i>	61,7 ± 5,9		57,7 ± 10,4		60,2 ± 7,9	
<i>I.C. da média (95%)</i>	(58,4; 64,9)		(49,7; 65,7)		(56,8; 63,5)	
<i>Mediana (Q₁ – Q₃)</i>	61,7 (58,1 – 66,5)		57,5 (54,8 – 63,8)		61,1 (55,5 – 64,9)	
<i>Mínimo – Máximo</i>	50,2 – 70,1		36,2 – 74,8		36,2 – 74,8	
	p = 0,472 (Z = 0,719); r = 0,15					
Tempo aproximado entre biópsia e elastografia (meses)	(n = 15)		(n = 9)		(n = 24)	
<i>Média ± d.p</i>	7,6 ± 7,7		10,0 ± 8,9		8,5 ± 8,1	
<i>I.C. da média (95%)</i>	(3,3; 11,9)		(3,1; 16,9)		(5,1; 11,9)	
<i>Mediana (Q₁ – Q₃)</i>	6,0 (2,0 – 16,0)		7,0 (3,0 – 18,5)		6,0 (2,0 – 15,5)	
<i>Mínimo – Máximo</i>	0,0 – 25,0		1,0 – 25,0		0,0 – 25,0	
	p = 0,245 (Z = 1,163); r = 0,24					
Escore NAS – Fibrose (*)						
2	3	20,0 ^a	7	77,8 ^b	10	41,7
3	6	40,0 ^a	2	22,2 ^a	8	33,3
4	6	40,0 ^b	0	0,0 ^a	6	25,0
TOTAL	15	100,0	9	100,0	24	100,0
	p* = 0,013 (Valor = 8,158)					

Tabela 3. Análises descritiva e comparativa entre os grupos de pacientes COM ou SEM cirrose quanto à idade, tempo aproximado entre biópsia e elastografia e escores NAS e *Laennec*

Variável	Cirrose				GERAL	
	Sim		Não		N	%
	N	%	N	%		
Escore Laennec – Estágio (Referência)						
1	0	0,0	4	44,4	4	16,7
2	0	0,0	3	33,3	3	12,5
3	0	0,0	2	22,2	2	8,4
4 ^a	5	33,3	0	0,0	5	20,8
4B	5	33,3	0	0,0	5	20,8
4C	5	33,3	0	0,0	5	20,8
TOTAL	15	100,0	9	100,0	24	100,0

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (Com cirrose → 15 casos e Sem cirrose → 9 casos)

NOTA: d.p. → Desvio-padrão I.C. da média → Intervalo de confiança de 95% da média. p → Probabilidade de significância do teste de *Mann-Whitney* (Z → Estatística do teste). r → *Tamanho de efeito* para teste não-paramétrico.

p* → Probabilidade de significância do teste *Exato de Fisher*.

(*) → Os *resíduos padronizados* ajustados foram aplicados para verificar se existe ou não diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os pacientes COM ou SEM cirrose quando o cruzamento entre duas variáveis do tipo categórica for superior a tabela 2x2.

- “a” ou “b” → Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$) entre os Grupos para cada categoria da variável.

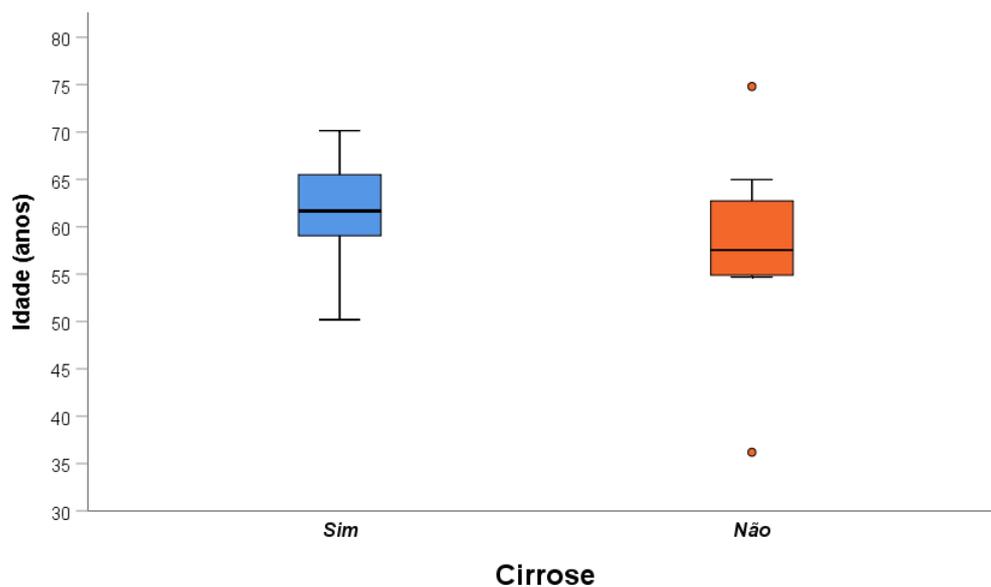


Figura 19. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variabilidade.

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (Com cirrose → 15 casos e Sem cirrose → 9 casos)

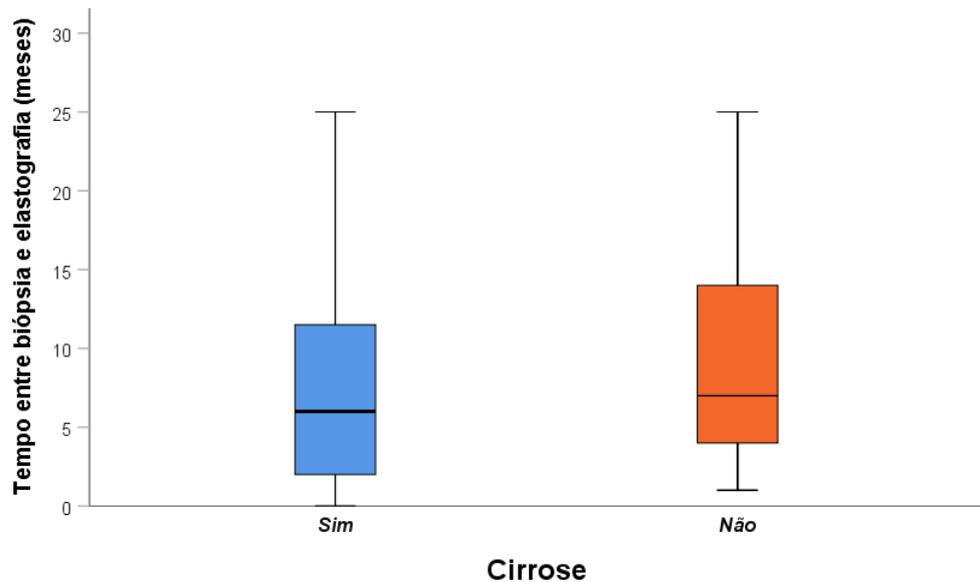


Figura 20. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável tempo entre biópsia e ET.

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* → 15 casos e *Sem cirrose* → 9 casos)

5.2 Avaliação da relação entre os escores de Laennec e NAS

Para investigar se existe ou não relação entre as categorias ordinais dos escores Laennec e escore de NAS as análises de V de Crammer e Tau c de Kendall foram aplicados. A tabela 4 mostra que existe correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as categorias ordinais dos escores Laennec e escore de NAS, onde o grau de correlação entre estas duas variáveis é considerada de grau moderado (V de Crammer = 0,679 e Tau de Kendall = 0,688).

O grau de correlação situa entre 0,40 e 0,75, tanto na avaliação pelo V de Crammer quanto pelo Tau c de Kendall. Ressalta-se também que devido ao pequeno tamanho da amostra esses resultados deverão ser verificados em um estudo com maior amostragem para uma melhor avaliação do grau da correlação entre os dois escores estudados.

Tabela 4. Análise de relação entre os Escores Laennec e NAS, no geral

Laennec	NAS						Total	
	2		3		4			
	N	%	n	%	N	%	N	%
<i>1</i>	2	8,3	2	8,3	0	0,0	4	16,7
<i>2</i>	3	12,5	0	0,0	0	0,0	3	12,5
<i>3</i>	2	8,3	0	0,0	0	0,0	2	8,3
<i>4A</i>	3	12,5	2	8,3	0	0,0	5	20,8
<i>4B</i>	0	0,0	3	12,5	2	8,3	5	20,8
<i>4C</i>	0	0,0	1	4,2	4	16,7	5	20,8
Total	10	41,7	8	33,3	6	25,0	24	100,0

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral

NOTA: V de Crammer = 0,679 $\rightarrow p = 0,015$

Tau c de Kendall = 0,688 $\rightarrow p^* < 0,001$

$p \rightarrow$ Probabilidade de significância do teste V de Crammer.

$p^* \rightarrow$ Probabilidade de significância do teste Tau de Kendall – Tipo c.

5.3 Comparação dos pacientes dos grupos COM e SEM cirrose quanto às variáveis ET, FIB-4, APRI, Razão AST/ALT e morfometria

Para avaliar se existe diferença entre os grupos de pacientes COM ou SEM cirrose, com base no escore de Laennec, no que se referem às medidas das variáveis ET, FIB-4, APRI e Razão AST/ALT o teste não paramétrico de Mann-Whitney foi utilizado. A tabela 5 mostra que existe diferença estatisticamente significativa entre os pacientes COM cirrose e aqueles SEM cirrose somente no que diz respeito à distribuição das medidas do FIB-4 ($p = 0,019$; $Z = 2,355$, portanto, $p < 0,05$) e do APRI ($p = 0,037$; $Z = 2,083$, portanto, $p < 0,05$).

Para ambas as variáveis, os pacientes COM cirrose apresentaram uma distribuição das medidas de FIB-4 e das medidas de APRI significativamente maior do que os pacientes SEM cirrose. As figuras 21 a 24 mostram também esses resultados.

Considerando o tamanho de efeito exibido na tabela 5, nota-se uma correspondência entre a probabilidade de significância (p) do teste de Mann-Whitney e o tamanho de efeito obtido ($r = 0,15$) na comparação das medidas de FIB-4 e de APRI entre os dois grupos de pacientes. Ou seja, o resultado mostra que existe diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os pacientes COM ou SEM cirrose e seu tamanho de efeito é considerado moderado ou relativamente moderado ($r = 0,50$); tamanho de efeito com valor igual ou próximo de 0,50.

Portanto, “cl clinicamente” o tamanho de efeito da diferença entre os domínios é relativamente expressivo ou satisfatório.

Por fim, e conforme a tabela 5 mostra que existe diferença estatisticamente significativa ($p = 0,002$; $Z = 3,071$, portanto, $p < 0,05$) entre os pacientes COM cirrose e aqueles SEM cirrose quanto à variável morfometria (APC). A figura 25 também exibe o resultado.

Tabela 5. - Análise descritiva e comparativa entre os grupos de pacientes COM ou SEM cirrose quanto as medidas das variáveis ET (kPa), FIB-4, APRI, Razão AST/ALT e Morfometria

Cirrose	n	Medidas descritivas		p
		Média \pm d.p.	Mediana (Q ₁ – Q ₃)	
Elastografia transitória				
<i>Sim</i>	15	17,5 \pm 16,8	11,9 (9,6 – 20,3)	0,128
<i>Não</i>	9	10,0 \pm 3,7	10,1 (7,4 – 11,9)	Z = 1,521; r = 0,31
FIB – 4				
<i>Sim</i>	15	2,19 \pm 0,83	2,09 (1,66 – 2,77)	0,019
<i>Não</i>	9	1,39 \pm 0,87	1,01 (0,81 – 2,05)	Z = 2,355; r = 0,48
APRI				
<i>Sim</i>	15	0,6 \pm 0,2	0,6 (0,4 – 0,8)	0,037
<i>Não</i>	9	0,4 \pm 0,2	0,3 (0,2 – 0,5)	Z = 2,083; r = 0,43
Razão AST / ALT				
<i>Sim</i>	15	0,99 \pm 0,18	0,94 (0,83 – 1,11)	0,311
<i>Não</i>	9	0,96 \pm 0,44	0,88 (0,61 – 1,33)	Z = 1,014; r = 0,21
Morfometria				
<i>Sim</i>	15	20,52 \pm 11,46	17,35 (13,56 – 21,11)	0,002
<i>Não</i>	9	11,38 \pm 3,29	10,07 (8,63 – 14,33)	Z = 3,071; r = 0,63

DADOS: 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* \rightarrow 15 casos e *Sem cirrose* \rightarrow 9 casos)

NOTA: p \rightarrow Probabilidade de significância do teste de *Mann-Whitney* (Z \rightarrow Estatística do teste). r \rightarrow *Tamanho de efeito* para teste não-paramétrico.

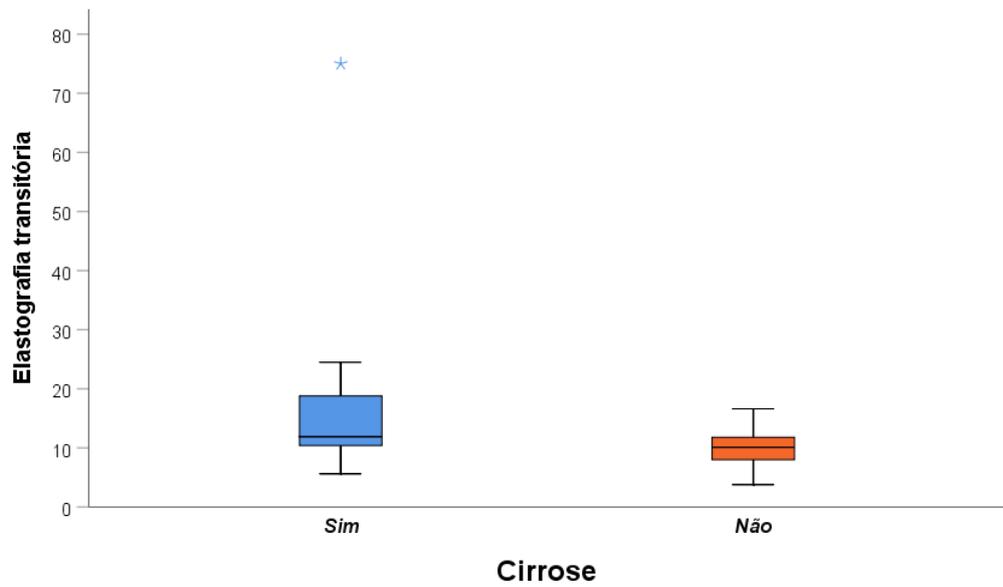


Figura 21. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável ET. **BASE DE DADOS:** 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* → 15 casos e *Sem cirrose* → 9 casos)

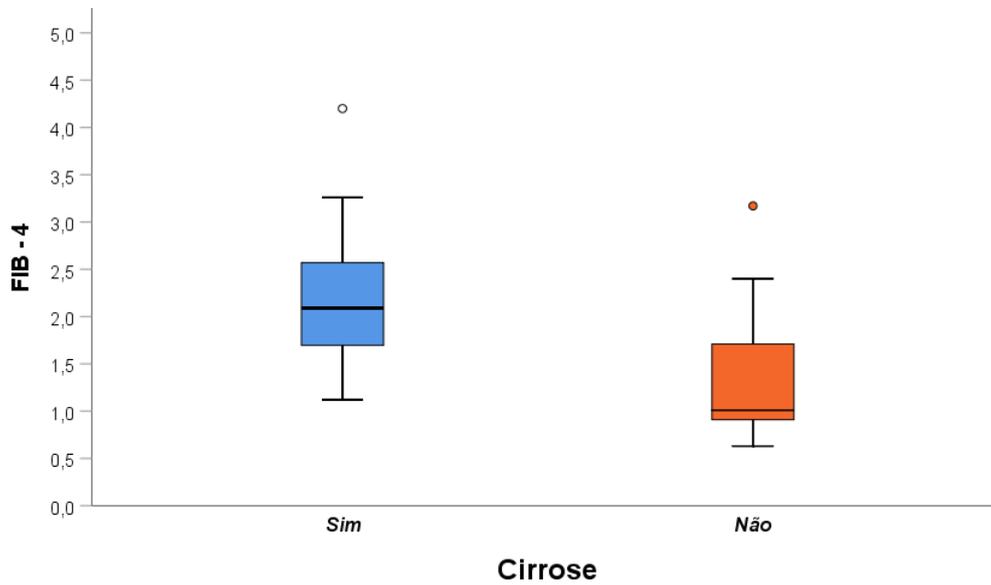


Figura 22. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável FIB-4.

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* → 15 casos e *Sem cirrose* → 9 casos)

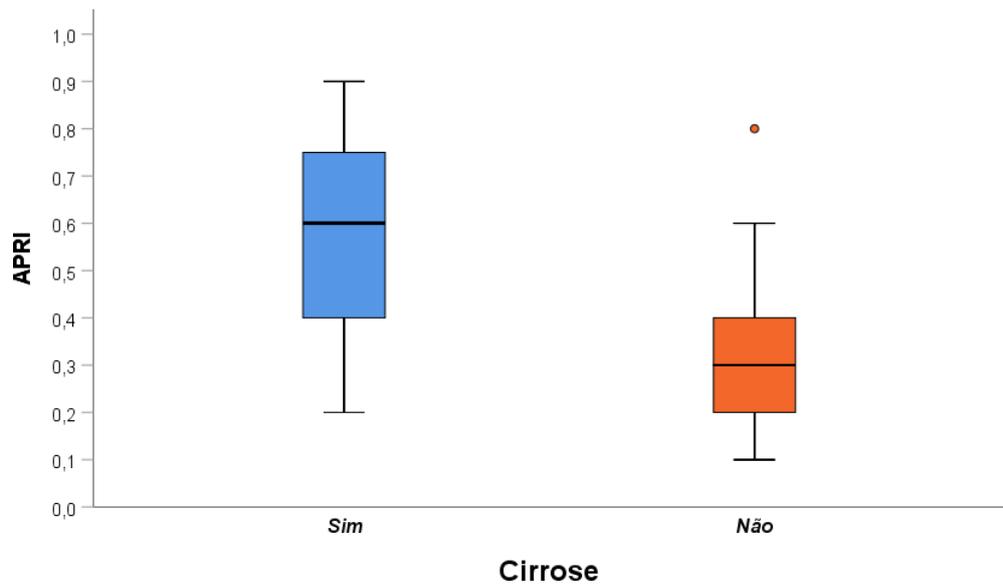


Figura 23. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável APRI.

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* → 15 casos e *Sem cirrose* → 9 casos)

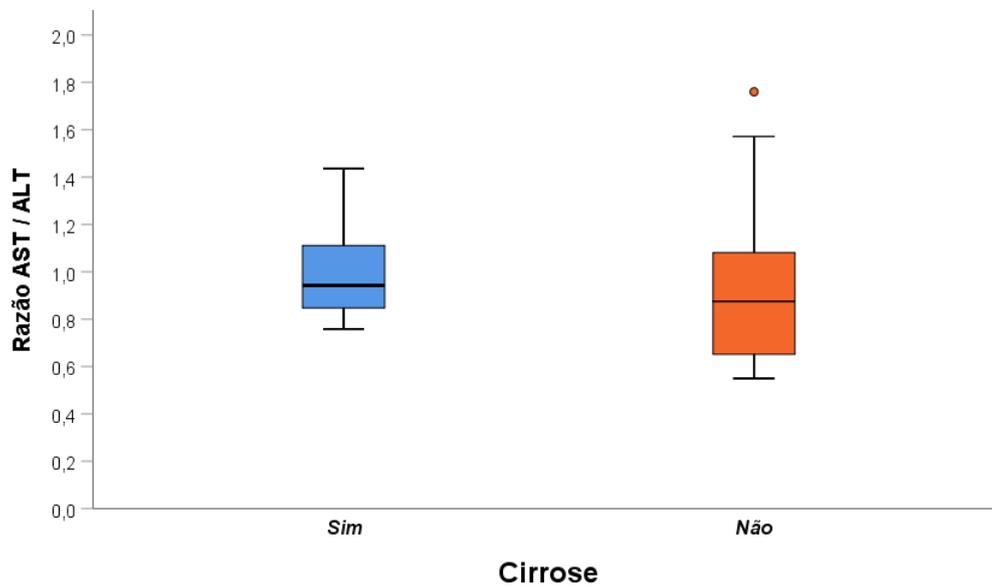


Figura 24. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável razão AST/ALT.

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* → 15 casos e *Sem cirrose* → 9 casos)

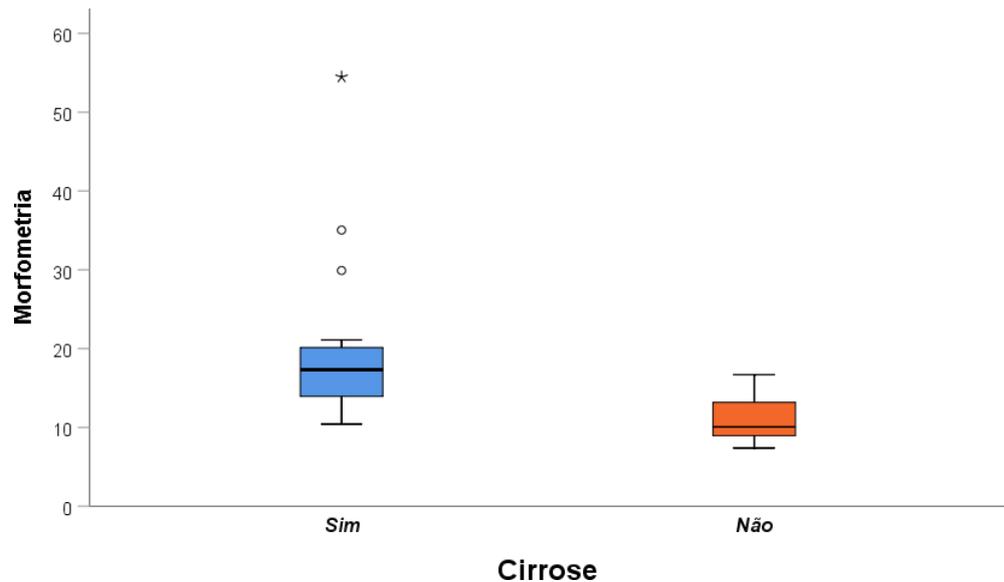


Figura 25. Gráfico Boxplot da comparação entre os pacientes COM e SEM cirrose quanto à variável morfometria.

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* → 15 casos e *Sem cirrose* → 9 casos)

5.4 Análise de correlação entre os escores e variáveis de interesse

Com o objetivo de investigar se existe ou não relação entre as medidas do escore Laennec e demais variáveis relacionadas (ET, FIB-4, APRI, Razão AST/ALT, idade e morfometria) a presença ou não de cirrose nos pacientes, em pares, a Análise de Correlação de Spearman (teste não-paramétrico) foi usada. Esta análise tem como intuito avaliar a significância estatística (p) da relação entre duas variáveis e também o grau da correlação (r) entre duas variáveis do tipo quantitativa ou do tipo ordinal.

Conforme mostrado na tabela 6, existe correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$), diretamente proporcional ($r > 0$, ou seja, correlação positiva – quanto maior o escore Laennec, maior a medida da elastografia) e com grau de correlação variando de moderado ($0,40 \leq r \leq 0,75$) a forte ($r > 0,75$) entre alguns pares de variáveis. E também correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$), diretamente proporcional, entre o escore de Laennec

e a morfometria.

Além disso existe correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) e com grau forte de correlação ($r = 0,87$, portanto, $r > 0,75$) entre as variáveis “FIB-4” e “APRI”, sendo que, quanto maior a medida da variável FIB-4 obtida pelo paciente, maior a medida da variável APRI e, vice-versa. Desta forma, pode-se afirmar que as correlações estatisticamente significativas encontradas não são estatisticamente nulas (portanto, $r \neq 0$).

Uma outra maneira de interpretar o coeficiente / grau de correlação (r) entre duas variáveis é elevando o valor do coeficiente de correlação ao quadrado (r^2). Essa medida é conhecida como “Coeficiente de Determinação (R^2)” e quantifica a precisão da qualidade da relação entre duas variáveis quantitativas ou ordinais de interesse.

Desta forma, se elevássemos ao quadrado, por exemplo, o valor de coeficiente de correlação igual a 0,87 (relação entre “FIB-4” \times “APRI”) teríamos um Coeficiente de Determinação igual a 0,757 ($0,87^2 = 0,757$ ou 75,7%). Com isso, poderia se afirmar que 75,7% das medidas “FIB-4” seriam explicadas pelas medidas do “APRI” (e vice-versa), logo, um forte poder de explicação entre estas variáveis (R^2 refere-se ao tamanho de efeito da correlação entre duas variáveis de interesse).

Para as demais correlações significativas ($p < 0,05$) encontradas os coeficientes de correlação (r) variam de moderados a fracos graus de correlação entre duas variáveis de interesse e com Coeficientes de Determinação abaixo de 30% ($R^2 < 30\%$). Como já dito anteriormente, devido ao pequeno tamanho da amostra estes resultados deverão ser verificados num estudo com amostra maior para confirmação ou não dos resultados alcançados.

TABELA 6. Análise de Correlação entre escore e variáveis de interesse

<u>Variável</u>	Laennec	Elasto- grafia	FIB-4	APRI	Razão AST/ALT	Morfo- metria	Idade
Laennec	1	0,53	0,51	0,33	0,12	0,52	0,28
	0,000	0,008	0,012	0,113	0,589	0,009	0,193
Elasto- grafia	—	1	0,28	-0,01	0,26	0,07	0,27
		0,000	0,187	0,974	0,213	0,749	0,203
FIB-4	—	—	1	0,87	0,33	0,34	0,41

			0,000	< 0,001	0,117	0,101	0,046
APRI	—	—	—	1	0,30	0,24	0,12
				0,000	0,151	0,254	0,573
Razão AST/ALT	—	—	—	—	1	-0,17	0,21
					0,00	0,432	0,314
Morfo- metria	—	—	—	—	—	1	0,29
						0,000	0,163
Idade	—	—	—	—	—	—	1
							0,000

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral

NOTA: 1ª linha → *Coeficiente de Correlação de Spearman (r)*.

2ª linha → Probabilidade de significância (**p**) referente à *Análise de Correlação de Pearson*.

Ainda para avaliar se existe diferença entre os três níveis do escore de Laennec dos pacientes COM cirrose quanto às medidas das variáveis ET, FIB-4, APRI, Razão AST/ALT e morfometria o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi aplicado. Conforme mostrado na tabela 7, o resultado mostra que não existe diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) entre três níveis do escore de Laennec dos pacientes COM cirrose quanto à distribuição de cada uma das variáveis, exceto a morfometria. Ainda devido ao pequeno tamanho da amostra, nessa comparação, o tamanho de efeito não foi calculado uma vez que o resultado não seria adequado.

TABELA 7. Análise descritiva e comparativa entre os 3 níveis do escore de Laennec dos pacientes COM cirrose quanto às medidas das variáveis “Elastografia transitória (kPa)”, “FIB-4”, “APRI” e “Razão AST/ALT” e morfometria

4A	5	0,6 ± 0,3	0,6 (0,3 – 0,9)	0,855 4A = 4B = 4C
4B	5	0,5 ± 0,2	0,6 (0,4 – 0,6)	
4C	5	0,6 ± 0,3	0,6 (0,4 – 0,9)	
Razão AST / ALT				
4A	5	1,07 ± 0,25	1,11 (0,85 – 1,28)	0,181 4A = 4B = 4C
4B	5	0,86 ± 0,08	0,86 (0,80 – 0,93)	
4C	5	1,03 ± 0,15	1,06 (0,88 – 1,15)	
Morfometria				
4A	5	13,62 ± 2,78	13,33 (11,05 – 16,35)	0,049 4A = 4B = 4C (*)
4B	5	25,07 ± 16,67	19,15 (15,32 – 37,79)	
4C	5	22,85 ± 9,07	17,53 (15,88 – 32,48)	

BASE DE DADOS: 15 pacientes COM cirrose.

NOTA: p → Probabilidade de significância do teste de *Kruskal-Wallis*.

(*) - Comparações múltiplas baseada na *Correção de Bonferroni*.

5.5 Aplicação da curva ROC

Foram realizadas análises de Curva ROC com o objetivo de avaliar a sensibilidade e a especificidade do ponto de corte para as variáveis idade do paciente, ET, FIB-4, APRI e Razão AST/ALT e morfometria que melhor discrimina um paciente COM cirrose, considerando o escore de Laennec. Participaram 24 pacientes, sendo 15 do grupo de pacientes COM cirrose (62,5%) e 9 do grupo de pacientes SEM cirrose (37,5%).

Por exemplo, em relação à medida da variável FIB-4 (Figura 28 e tabela 8), o resultado demonstra uma curva estatisticamente significativa (Área sob a curva = 0,793; p = 0,001; I.C. de 95% = 0,57 a 1,00). Portanto, existe um ponto de corte que melhor maximiza a sensibilidade e a especificidade na detecção de um paciente COM cirrose.

No presente caso, estabelecendo o ponto de corte igual a 1,070 tem-se uma sensibilidade de 1,000 e uma especificidade de 0,667 (tabela 8). A variável FIB-4 apresentou maior capacidade de classificar corretamente um paciente COM cirrose (100% dos casos) quando comparado com paciente SEM cirrose (66,7% dos casos).

Em relação ao ponto de corte para a variável APRI e morfometria, a interpretação do resultado é análoga ao discutido no parágrafo anterior. As figuras 26 a 28 e as tabela 8 a 10 mostram uma melhor visualização deste resultado. Deverá avaliar o melhor “custo-benefício”

ao escolher ou determinar um ponto de corte para as variáveis avaliadas à luz da presença ou não de cirrose nos pacientes.

Em relação às demais variáveis utilizadas, ET e razão AST/ALT para avaliar um ponto de corte para detectar um paciente COM cirrose, os resultados mostraram que as áreas sob as curvas encontradas não foram estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$). Portanto, não existe um ponto de corte que melhor discrimina um paciente COM cirrose baseando-se no escore de Laennec. Novamente, devido ao pequeno tamanho da amostra esses resultados deverão ser confirmados num estudo com amostra maior para uma melhor verificação de algum tipo de viés nos achados.

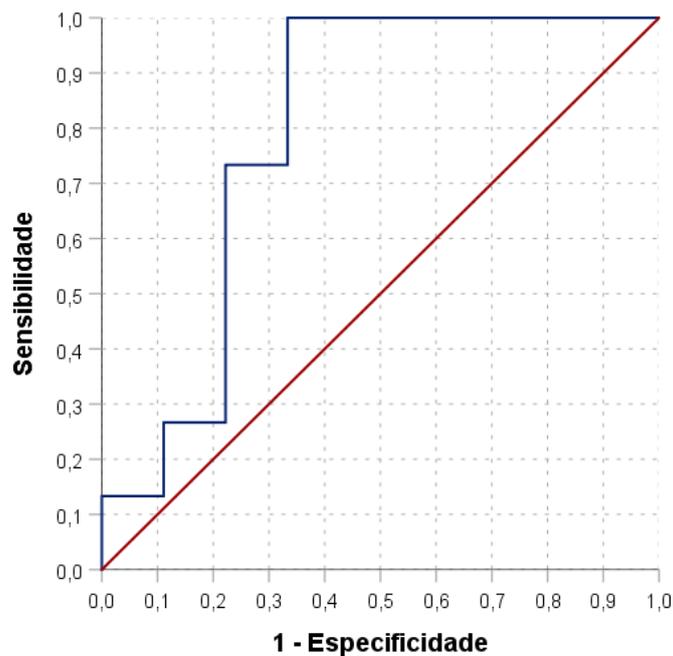


Figura 26. Curva ROC para determinação do ponto de corte da variável FIB-4 que melhor discrimina um paciente com cirrose

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (Com cirrose □ 15 casos e Sem cirrose □ 9 casos)

NOTA: Área sob a curva = 0,793; IC de 95% = (0,57; 1,00); $p = 0,001$

Tabela 8. Coordenadas da curva ROC para determinação do ponto de corte da variável FIB - 4 que melhordiscrimina um paciente com cirrose

Positivo se maior ou igual a	Sensibilidade	1 – Especificidade	Especificidade
0,370	1,000	1,000	0,000
0,665	1,000	0,889	0,111
0,805	1,000	0,778	0,222
0,945	1,000	0,667	0,333
0,995	1,000	0,556	0,444
1,015	1,000	0,444	0,556
1,070	1,000	0,333	0,667
1,155	0,933	0,333	0,667
1,205	0,867	0,333	0,667
1,440	0,800	0,333	0,667
1,685	0,733	0,333	0,667
1,720	0,733	0,222	0,778
1,860	0,667	0,222	0,778
2,015	0,600	0,222	0,778
2,065	0,533	0,222	0,778
2,105	0,467	0,222	0,778
2,160	0,400	0,222	0,778
2,285	0,333	0,222	0,778
2,385	0,267	0,222	0,778
2,585	0,267	0,111	0,889
2,805	0,200	0,111	0,889
3,005	0,133	0,111	0,889
3,215	0,133	0,000	1,000
3,730	0,067	0,000	1,000
5,200	0,000	0,000	1,000

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* → 15 casos e *Sem cirrose* → 9 casos)

NOTA: Área sob a curva = 0,793; IC de 95% = (0,57; 1,00); **p = 0,001**

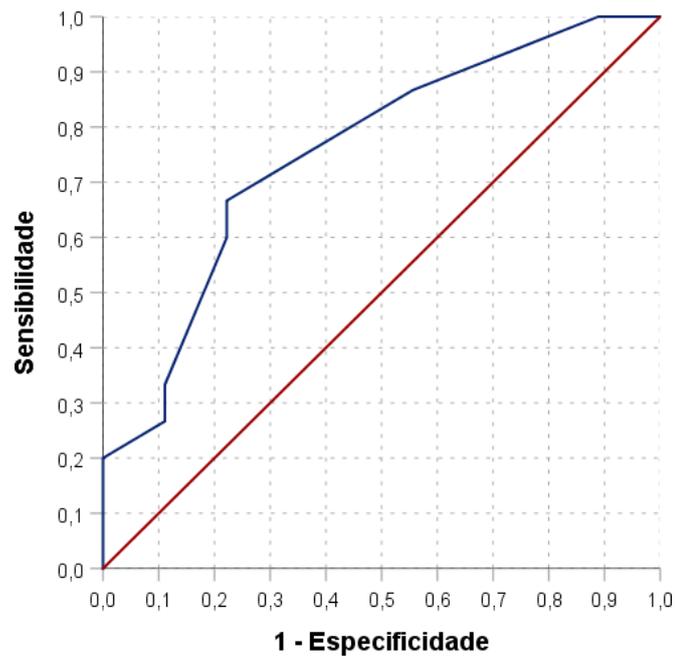


Figura 27. Curva ROC para determinação do ponto de corte da variável APRI que melhor discrimina um paciente com cirrose

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (*Com cirrose* → 15 casos e *Sem cirrose* → 9 casos)

NOTA: Área sob a curva = 0,756; IC de 95% = (0,55; 0,96); **p = 0,014**

Tabela 9. Coordenadas da curva ROC para determinação do ponto de corte da variável APRI que melhor discrimina um paciente com cirrose

Positivo se maior ou igual a	Sensibilidade	1 – Especificidade	Especificidade
0,000	1,000	1,000	0,000
0,150	1,000	0,889	0,111
0,250	0,867	0,556	0,444
0,350	0,800	0,444	0,556
0,450	0,667	0,222	0,778
0,550	0,600	0,222	0,778
0,650	0,333	0,111	0,889
0,750	0,267	0,111	0,889
0,850	0,200	0,000	1,000
1,000	0,000	0,000	1,000

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (Com cirrose → 15 casos e Sem cirrose → 9 casos) **NOTA:** Área sob a curva = 0,756; IC de 95% = (0,55; 0,96); **p = 0,014**

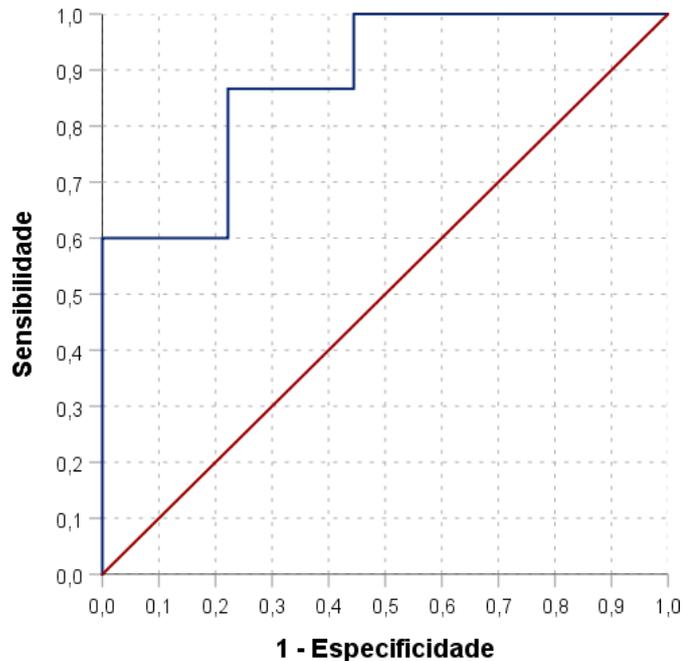


Figura 28. Curva ROC para determinação do ponto de corte da variável morfometria que melhor discrimina um paciente com cirrose

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (Com cirrose → 15 casos e Sem cirrose → 9 casos)

NOTA: Área sob a curva = 0,881; IC de 95% = (0,744; 1,000); **p = 0,002**

TABELA 10. Coordenadas da curva ROC para determinação do ponto de corte da variável morfometria quemelhor discrimina um paciente com cirrose

Positivo se maior ou igual a	Sensibilidade	1 - Especificidade	Especificidade
6,3900	1,000	1,000	0,000
7,8500	1,000	0,889	0,111
8,6300	1,000	0,778	0,222
9,2400	1,000	0,667	0,333
9,8000	1,000	0,556	0,444
10,2500	1,000	0,444	0,556
11,0450	0,933	0,444	0,556
12,2350	0,867	0,444	0,556
12,9950	0,867	0,333	0,667
13,2550	0,867	0,222	0,778
13,4450	0,800	0,222	0,778
13,9450	0,733	0,222	0,778
14,8400	0,667	0,222	0,778
15,4100	0,600	0,222	0,778
16,0850	0,600	0,111	0,889
16,8900	0,600	0,000	1,000
17,2150	0,533	0,000	1,000
17,3900	0,467	0,000	1,000
17,4800	0,400	0,000	1,000
18,3400	0,333	0,000	1,000
20,1300	0,267	0,000	1,000
25,5100	0,200	0,000	1,000
32,4750	0,133	0,000	1,000
44,7550	0,067	0,000	1,000
55,4700	0,000	0,000	1,000

BASE DE DADOS: 24 pacientes, no geral (Com cirrose → 15 casos e Sem cirrose → 9 casos)NOTA: Área sob a curva = 0,881; IC de 95% = (0,744; 1,000); p = 0,002

6 DISCUSSÃO

A DHGNA é a hepatopatia crônica mais prevalente em todo o mundo e com cerca de três a cinco por cento da população mundial estimada com EHNA. Considerando sua associação com importantes fatores tais como SM, DM II, hipertensão arterial e obesidade é possível imaginar o impacto e importância dessa entidade (YOUNOSSI et al., 2016; POVSIC et al., 2019).

Levando-se em conta dados epidemiológicos, a pequena amostra de 24 pacientes pode parecer paradoxal. Mas foram utilizados critérios rígidos para a seleção da amostra e de pacientes que apresentassem de fato DHGNA / EHNA e com exclusão de causas secundárias e outras doenças hepáticas crônicas.

Foram excluídos também aqueles com comorbidades graves ou outras causas de esteatose associadas, sendo esse um importante perfil dos pacientes do Ambulatório de DHGNA do HC-UFG. Soma-se a isto a perda de acompanhamento, não realização de biópsia e/ou elastografia, e muitas quando realizadas apresentavam intervalos superiores a 36 meses entre as mesmas.

Os pacientes com EHNA eram em sua maioria obesos ($IMC \geq 30\text{kg/m}^2$), com DM II, dislipidemias e outros achados da SM. Conforme também observado na maioria dos estudos epidemiológicos relacionados à doença (COTRIM et al., 2011; YOUNOSSI et al., 2016).

Ainda sobre a amostra do estudo apenas dois são homens. A predominância do público feminino também é observado na população do ambulatório de DHGNA no geral. E que talvez possa resultar ou refletir na maior importância ou da valorização da saúde em relação ao público masculino.

Quanto à idade os valores para a DHGNA variam de 36 a 75 anos (levando em consideração a data da biópsia), média em torno de 60 anos e não sendo encontrada uma significância estatística no que se refere entre os pacientes com e sem cirrose. No presente estudo os pacientes com cirrose apresentaram uma distribuição de idade semelhante aos pacientes sem cirrose, tendo como base o escore de Laennec. Intuitivamente, poderia se pensar que quanto mais velhos fossem os pacientes maiores as chances de fibrose avançada ou cirrose, tendo em vista o acúmulo de lesões hepáticas e como citam alguns autores.

De acordo com estudos transversais, os pacientes com EHNA com idade mais avançada apresentam fibrose também mais avançada. No entanto, estudos longitudinais não confirmam tal fato (BERTOT; ADAMS, 2016).

Na avaliação de duas variáveis categóricas entre os pacientes com e sem cirrose pelos escores histológicos de escore de NAS e Laennec, sendo esta última empregada por cegamento, houve significância estatística com valor de p de 0,013 para aqueles pacientes com escore de NAS estágio 2 (originalmente sem cirrose) e para aqueles que foram classificados com cirrose quando escore de NAS estágio 4 (originalmente com cirrose).

Já quando inicialmente classificados como escore de NAS estágio 3 não houve significância estatística quanto ao emprego do escore de Laennec entre pacientes cirróticos ou não. Isso pode revelar a dificuldade, ou não concordância interobservador entre patologistas, para classificação de fibrose intermediária. Para tal graduação os dois escores apresentam aspectos morfológicos diferentes, sendo no escore de Laennec a presença de moderados septos finos até cirrose incompleta; e no escore de NAS a presença de fibrose perissinusoidal e portal/periportal.

Para os pacientes com e sem cirrose, a partir do escore de Laennec, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas quanto ao emprego dos escores clínicos FIB-4 e APRI. Sendo que aqueles com Laennec 4 apresentaram valores numéricos significativamente maiores para ambos. E inclusive definido um ponto de corte na CURVA ROC também para os dois escores clínicos.

Tal fato corrobora que esses dois escores, apesar da simplicidade, apresentam robustez como relatado na literatura. Sendo o APRI um bom método para prever fibrose avançada ou para excluí-la, mas não sendo tão preciso para prever fibrose moderada. Sendo o FIB-4 a melhor opção para estágios intermediários. (PELEG et al., 2017).

No presente estudo, ambos os escores foram úteis em prever fibrose acentuada. Importante ressaltar também que devem ser usados em conjunto com outros métodos e não de maneira isolada (COX-NORTH, 2021).

Para a razão AST/ALT não houve diferença entre os grupos de pacientes com cirrose e sem cirrose. A literatura indica que quando maior que um há maior probabilidade de fibrose avançada (ALKHOURI, N; MCCULLOUGH, A., 2012). Em nosso estudo a maioria indivíduos com fibrose avançada, considerando a classificação de Laennec, apresentavam relação menor que um (10 pacientes) e uma menor parte daqueles também com fibrose avançada apresentavam relação maior que um (6 pacientes).

Para a subclassificação de cirrose por Laennec (4A, 4B e 4C), com cegamento da amostra, não foi encontrada uma associação estatisticamente significativa com a variável ET, apesar de esta associação ter sido obtida quando foram incluídos todos os casos (com e sem cirrose). Associação também foi observada entre o escore de Laennec e os escores clínicos de

APRI e FIB-4. De uma maneira geral quanto maior a graduação por Laennec maiores os valores proporcionais de ET, FIB-4 e APRI-4, inclusive com boa área abaixo da curva (AUROC) quando empregada a curva ROC para os dois últimos. Isso pode se traduzir, provavelmente, que o patologista especialista em fígado foi assertivo quanto ao emprego do escore de Laennec. No entanto existe a necessidade de aumento da amostra para a confirmação de tal fato.

Entre os pacientes com e sem cirrose foi demonstrado que existe forte associação para valores de FIB-4 e APRI, exibindo inclusive valores diretamente proporcionais, provavelmente pelo fato desses dois escores usarem parâmetros parecidos.

Ainda para o escore de FIB-4 com um ponto de corte de 1,07 foi obtida sensibilidade de 1,000 e 0,677 que conseguiu discriminar todos os pacientes com cirrose do estudo (15 de 24). Em comparação com o que é relatado na literatura um cutoff menor que 1.3 apresenta um valor preditivo negativo de 90 a 95% para descartar fibrose avançada. Interessante também dizer que apresenta a maior área sobre a curva ROC (0.80-0.86) em predizer fibrose avançada quando comparado a outros marcadores de fibrose tais como razão AST/ALT, BARD score e NFS (ALKHOURI, N; MCCULLOUGH, A., 2012).

Para a interpretação do APRI os valores são análogos aos encontrados no FIB-4. Sendo também encontrado um ponto de corte que de 0,150 discrimina todos os pacientes com cirrose no estudo com sensibilidade de 1,000, mas especificidade de 0,111. O valor de 0,450 é o que apresenta uma boa sensibilidade de 0,677 e boa especificidade de 0,778.

Quanto à morfometria poderia se pensar que quanto maior fosse escore de Laennec ou ET maiores seriam também os valores de APC. Para a ET não foi encontrada correlação, assim como escores clínicos e razão AST/ALT. Mas para o escore histológico de Laennec sim, incluindo a subclassificação de cirrose.

Foi ainda definido um ponto de corte que melhor discrimina os pacientes com cirrose.

O valor de 13,2550 micrômetros apresenta sensibilidade de 0,867 e especificidade de 0,778.

Dados da literatura sobre morfometria permanecem contraditórios e com questionamentos quanto à validação metodológica, pois pode estar sujeita a enviesamentos entre eles software, análise inter e intraobservador, tamanhos de amostra, colorações, ajustes de captura de área, dentre outros.

Alguns estudos relatam que o valor de APC não é sensível o bastante para diferenciar a fibrose leve de significativa, mas pode se comportar de maneira linear associada à progressão da fibrose para o estágio final. Enquanto outros referem que os valores se

correlacionaram-se bem com a pontuação de todas as categorias histológicas de fibrose leve a avançada (WANG; HOU J, 2015). Este último fato foi observado no presente estudo, mas ainda necessita de maior amostragem.

7- CONCLUSÕES

Os escores histológicos de Laennec e NAS apresentaram correlação na avaliação de fibrose leve e acentuada em biópsias hepáticas de pacientes com EHNA. O mesmo não aconteceu em casos de fibrose intermediária.

Os escores clínicos APRI e FIB-4 se mostraram úteis para graduação da fibrose em pacientes com cirrose (segundo Laennec). O primeiro apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 68% para um ponto de corte de 1,070. E o segundo com uma nota de corte de 0,450 apresenta uma sensibilidade de 68% e especificidade de 78% para discriminar pacientes com e sem cirrose.

Elastografia e FIB-4 apresentaram relação direta com os graus de fibrose em biópsias hepáticas de pacientes com DHGNA avaliadas pelo escore histológico de Laennec.

Valores de FIB-4 e APRI apresentaram relação direta em pacientes com DHGNA.

A razão AST/ALT não se mostrou eficaz para avaliação do grau de fibrose em biópsias hepáticas de pacientes com DHGNA avaliadas pelo escore histológico de Laennec.

A morfometria se mostrou eficaz para avaliação da fibrose em biópsias hepáticas de pacientes com DHGNA, apresentando boa correlação com o escore histológico de Laennec incluindo a subclassificação de cirrose.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJMERA, V. et al. Novel plasma biomarkers associated with liver disease severity in adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, v. 65, n. 1, p. 65–77, 12 jan. 2017.
- ALBERTI, K. G. M. M. 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. *Circulation*, v. 120, n. 16, p. 1640–1645, 2009.
- ALKHOURI, N.; MCCULLOUGH, A. Noninvasive Diagnosis of NASH and Liver fibrosis Within the Spectrum of NAFLD. *Gastroenterology e Hepatology*, v. 8, n. 10. p. 661–668, Out.2012.
- ALMPANIS, Z.; DEMONAKOU, M.; TINIAKOS, D. Evaluation of liver fibrosis: “Something old, something new...”. *Annals of Gastroenterology*, v. 29, n. 4, p. 445–453, 2016.
- ANSTEE, Q. M. et al. Noninvasive Tests Accurately Identify Advanced Fibrosis due to NASH: Baseline Data From the STELLAR Trials. *Hepatology*, v. 70, n. 5, p. 1521–1530, 19 nov. 2019.
- BARRT, R. et al. Elastography Assessment of Liver Fibrosis. Society of Radiologist in Ultrasound Consensus Conference Statement. [s.n.]. p 1-17, Set. 2015
- BEDOSSA, P. et al. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. *Hepatology*, v. 56, n. 5, p. 1751–1759, nov. 2012.
- BEDOSSA, P et al. Histological Assessment of NAFLD. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 61, n. 5, p. 1348–1355, 13 mai. 2016.
- BEHAIRY, B. E.-S. et al. Transient elastography compared to liver biopsy and morphometry for predicting fibrosis in pediatric chronic liver disease: Does etiology matter? *World Journal of Gastroenterology*, v. 22, n. 16, p. 4238, 2016.
- BERTOT, L.; ADAMS, L. The Natural Course Of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. v. 17, p. 774, mai. 2016.
- BRUHA, R.; VITEK, L.; SMID, V. Osteopontin – A potential biomarker of advanced liver disease. *Annals of Hepatology*, v. 19, n. 4, p. 344–352, jul. 2020.
- BRUNT, E. M. et al. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Proposal for Grading and Staging The Histological Lesions. *American Journal of Gastroenterology*, v. 94, n. 9, p. 2467–2474, set. 1999.
- CABEZAS, J.; MAYORGA, M.; CRESPO, J. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Pathological View. In: NOBUMI TAGAYA (Ed.). *Liver Biopsy - Indications, Procedures, Results*. 1. ed. [s.l.] InTech, p. 161–188, 2012.
- CALVARUSO, V. et al. Computer-assisted image analysis of liver collagen: Relationship to Ishak scoring and hepatic venous pressure gradient. *Hepatology*, v. 49, n. 4, p. 1236–1244, abr. 2009.
- CANTADORI, L. et al. A análise morfométrica para avaliar a taxa de progressão da fibrose hepática na hepatite C crônica após o transplante renal: uma série de casos. *Gastroenterol. endosc. dig.* V. 32, p.1-5, fev. 2013.

- CARDOSO, A.; MENDES, C.; FILHO, R. Elastografia hepática transitória - Sociedade Brasileira de Hepatologia. Disponível em: <sbhepatologia.org.br/associados/pdf/FASC_HEPATO_32%20_FINAL.pdf>. Acesso em: 11 de dezembro de 2020.
- CASTÍ ERA, L. et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: A 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology*, v. 51, n. 3, p. 828–835, 2010.
- CASTERA, L.; FRIEDRICH-RUST, M.; LOOMBA, R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, v. 156, n. 5, p. 1264- 1281.e4, 2019.
- COTRIM, H. P. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Annals of Hepatology*, v. 10, n. 1, p. 33–37, 2011.
- COX-NORTH, P. Evaluation and Staging of Liver Fibrosis. *Hepatitis C Online*. 2021. Disponível em: <<https://www.hepatitisc.uw.edu/go/evaluation-staging-monitoring/evaluation-staging/core-concept/all>>. Acesso em: 13 de julho de 2023.
- 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*, v. 55, n. 6, p. 2005–2023, 2012.
- DAY, C. P.; JAMES, O. F. W. Steatohepatitis: A tale of two “Hits”? *Gastroenterology*, v. 114, n. 4 I, p. 842–845, 1998.
- DESMET, V.; ROSKAMS, T. Cirrhosis reversal: a duel between dogma and myth – *Journal of Hepatology*, v. 40, [s.n.]. p. 860-867, 2004.
- EASL–EASD–EASO. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*, v. 64, p. 1388–1402, 2016.
- FEDCHUK, L. et al. Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, v. 40, n. 10, p. 1209–1222, 2014.
- FELDSTEIN, A. E. et al. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: A multicenter validation study. *Hepatology*, v. 50, n. 4, p. 1072– 1078, out. 2009.
- GIORGIO, V. et al. Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment targets. *BMC pediatrics*, [s.n]. mar. 2003.
- HALÁSZ, T. et al. Evaluation of Histological and non-Invasive Methods for the Detection of Liver Fibrosis: The Values of Histological and Digital Morphometric Analysis, Liver Stiffness Measurement and APRI Score. *Pathology & Oncology Research*, v. 22, n. 1, p. 1–6, 19 jan. 2016.
- HERNAEZ, R. et al. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: A meta-analysis. *Hepatology*, v. 54, n. 3, p. 1082–1090, 2011.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica* . 13^a edição. Rio de Janeiro – RJ: Guanabara Koogan , 2013.

- KIM, M. Y. et al. Histological subclassification of cirrhosis using the Laennec fibrosis scoring system correlates with clinical stage and grade of portal hypertension. *Journal of Hepatology*, v. 55, n. 5, p. 1004–1009, nov. 2011.
- KIM, S. U. et al. The Laennec staging system for histological sub-classification of cirrhosis is useful for stratification of prognosis in patients with liver cirrhosis. *Journal of Hepatology*, v. 57, n. 3, p. 556–563, set. 2012.
- KLEINER, D.; BRUNT, E. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathologic Patterns and Biopsy Evaluation in Clinical Research. *Seminars in Liver Disease*, v. 32, n. 01, p. 003–013, 13 fev. 2012.
- KLEINER, D. E. et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, v. 41, n. 6, p. 1313–1321, jun. 2005.
- KUMAR, M. et al. Histological subclassification of cirrhosis based on histological-haemodynamic correlation. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, v. 27, n. 9, p. 771–779, 2008.
- LARSON, S. P. et al. Histopathologic Variability Between the Right and Left Lobes of the Liver in Morbidly Obese Patients Undergoing Roux-en-Y Bypass. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, v. 5, n. 11, p. 1329–1332, nov. 2007.
- LISBOA, Q. C. et al. PNPLA3 and TM6SF2 polymorphisms in Brazilian patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Hepatology*, v. 12, n. 10, p. 792–806, 27 out. 2020.
- MASUGI, Y.: et al. Quantitative Assessment of Liver Fibrosis Reveals a Nonlinear Association With Fibrosis Stage In Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *HEPATOLOGY COMMUNICATIONS*, V. 2, n. 1, p. 58-68, out. 2017.
- MAURICE, J.; MANOUSOU, P. Non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Medicine*, v. 18, n. 3, p. 245–250, jun. 2018.
- MCPHERSON, S. et al. Age as Cofounding Factor for the Accurate Non-Invasive Diagnosis of Advanced NAFLD Fibrosis. *American Journal of Gastroenterology*, v. 112, p. 740-751, mai. 2017.
- NAGATO, A. C. et al. Quantitative and morphological analyses of different types of human liver. *Journal of Morphological Sciences*, v. 28, n. 4, p. 275–279, 2011.
- NALBANTOGLU, I.; BRUNT, E. M. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, v. 20, n. 27, p. 9026–9037, 2014.
- PAREDES, A. H. et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinic Liver Disease*, v.16, p. 391-419, Mai. 2012.
- PELEG, N. et al. AST to Platelet Ratio Index and fibrosis 4 calculator scores for non-invasive assessment of hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive and Liver Disease*. v. 49, n. 10, p. 1133-1138, out. 2017.
- POVSIC, M. et al. A Structured Literature Review of the Epidemiology and Disease Burden of Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH). *Advances in Therapy*, v. 36, n. 7, p. 1574–1594, 7 jul. 2019.

- RASTOGI, A. et al. Cirrhosis histology and laennec staging system correlate with high portal pressure. *Histopathology*, v. 62, p. 731-741, fev. 2013.
- ROMEO, S. et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Genetics*, v. 40, n. 12, p. 1461–1465, 25 dez. 2008.
- SERPAGGI, J. et al. Direct and indirect evidence for the reversibility of cirrhosis. *Human Pathology*. v. 37, p.1519-1526, jul. 2006.
- SILVA, L. C. M. et al. Análise da elastografia por ultrassonografia em pacientes com esteatose hepática. *Radio Bras.* v. 53, p. 47-55, fev. 2019.
- SOOKOIAN, S. et al. Genetic Pathways in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Insights From Systems Biology. [s.l: s.n.]. v. 72
- TILG, H.; ADOLPH, T. E.; MOSCHEN, A. R. Multiple Parallel Hits Hypothesis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Revisited After a Decade. *Hepatology*, v. 73, n. 2, p. 833–842, 2021.
- TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*, v. 52, n. 5, p. 1836–1846, 2010.
- YOUNOSSI, Z. M. et al. A Novel Diagnostic Biomarker Panel for Obesity-related Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). *Obesity Surgery*, v. 18, n. 11, p. 1430–1437, 24 nov. 2008.
- YOUNOSSI, Z. M. et al. Global burden of NAFLD and NASH: Trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, v. 15, n. 1, p. 1–10, 2018.
- YOUNOSSI, Z. M. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, v. 64, n. 1, p. 73–84, jul. 2016.
- YOUNOSSI, Z. M. et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin Gastroenterol Hepatol.* v. 9, p. 524- 30, 2011.
- WANG, Y. HOU, J. Current Strategies for Quantitating Fibrosis in Liver Biopsy. *Chinese Medical Journal*, v. 128, p. 252-258, jan. 2015.
- WONG, R. J. et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*, v. 148, p. 547–555, 2015.
- WONG, V. W. S. et al. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH — current progress and future promise. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, v. 15, n. 8, p. 461–478, 2018.