

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

Relação entre a espessura médio-intimal das artérias carótidas e as apresentações da doença hepática gordurosa não-alcoólica: esteatose não-alcoólica e esteatohepatite

ANA CRISTINA LOPES ALBRICKER

Belo Horizonte - MG

2013

ANA CRISTINA LOPES ALBRICKER

Relação entre a espessura médio-intimal das artérias carótidas e as apresentações da doença hepática gordurosa não-alcoólica: esteatose não-alcoólica e esteatohepatite

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

Orientador: Profa. Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Co-orientador: Profa. Dra. Claudia Alves Couto

**FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE**

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Prof. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora

Profa. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Ricardo Santiago Gómez

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Renato de Lima Santos

Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Chefe do Departamento de Clínica Médica

Prof. Ricardo de Menezes Macedo

Coordenador do Programa de Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Subcoordenador do Programa de Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Prof. Paulo Caramelli

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Profa. Teresa Cristina A. Ferrari

Profa. Valéria Maria A. Passos

Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Prof. Paulo Caramelli

Prof. Francisco Eduardo C. Cardoso

Prof. Marcus Vinícius M. de Andrade

Andrea de Lima Barros (Representante discente)

Dedico este trabalho à memória do meu pai, meu exemplo de vida e por quem tenho verdadeira admiração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas, que de alguma forma, tornaram possível a realização desse trabalho:

À minha orientadora Profa. Teresa meu muitíssimo obrigado por todos os ensinamentos e por toda a paciência. Verdadeiro exemplo de amor e dedicação à vida acadêmica, o que a torna muito especial para a comunidade científica. Serei sempre grata.

À Profa. Claudia Couto pelos ensinamentos na área de hepatologia, por tirar as minhas dúvidas mais básicas e pelas boas sugestões, às quais foram inseridas na pesquisa.

À Profa. Maria do Carmo Pereira por ter me introduzido na vida acadêmica e pelo interesse em meu estudo.

Ao Prof. Oswaldo e a Prof. Luciana Costa por tornarem possível o nosso mutirão de biopsia.

À Profa. Paula Vidigal pela revisão de todas as lâminas de biopsias dos nossos pacientes.

À colega e amiga Dra. Leticia Azeredo por realizar a ultrassonografia abdominal dos nossos pacientes.

À grande amiga Dra. Claudia Freire pelas sugestões na análise estatística, participando ativamente da primeira reunião com o estatístico.

Ao estatístico do CPG, Fernando, agradeço a dedicação e a disponibilidade em me auxiliar nessa tarefa.

Às queridas companheiras de ambulatório, as nutricionistas Tâmara, Maria Luisa, Geisa e Sílvia. O grupo NASH mora no meu coração.

Aos acadêmicos Lucas e Clara, responsáveis e dedicados. A atuação de vocês foi fundamental para a conclusão desse trabalho. Obrigada. Vocês também estão no meu coração.

Ao colegiado do Programa CASA, pelos ensinamentos.

Às recepcionistas do ambulatório do Instituto Alfa de Gastroenterologia, pelo acolhimento aos pacientes e pela disposição em resolver as nossas pendências.

Ao pessoal da informática do CPG, sempre disponíveis para resolver as nossas dúvidas.

Aos pacientes, pela confiança em nosso trabalho, que mesmo enfermos mantiverem a capacidade de doação.

À Esaote do Brasil por ceder gentilmente o aparelho de ultrassonografia para a avaliação das artérias carótidas.

À minha família, meu marido Paulo e minhas filhas Camila e Isabela, por manterem o meu equilíbrio emocional, respeitarem as minhas horas de estudo e abrirem mão da minha presença em vários momentos de lazer. Vocês são tudo na minha vida. Obrigada pelo amor de vocês.

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos.” (Marcel Proust)

RESUMO

Introdução: doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) é causa importante de doença hepática crônica no ocidente. Engloba um espectro de condições clínico-patológicas que varia de esteatose não-alcoólica (ENA) e esteatohepatite não-alcoólica (EHNA) até fibrose/cirrose hepáticas. Está frequentemente associada à síndrome metabólica (SM); e uma das principais causas de morte em pacientes com DHGNA é a doença arterial coronariana. O aumento da espessura médio-intimal (EMI) das artérias carótidas é marcador de doença cardiovascular subclínica e acredita-se que possa ser também indicador da gravidade da DHGNA. O objetivo deste estudo foi investigar associação entre a EMI das artérias carótidas, medida por radiofrequência, e as formas clínicas de DHGNA - ENA e EHNA. **Métodos:** foram investigados 34 pacientes adultos com ENA e 20, com EHNA, além de 26 controles sem SM e/ou DHGNA. Comparou-se entre os dois grupos de pacientes com DHGNA, as características clínico-metabólicas e a medida da EMI das artérias carótidas, determinada por radiofrequência. A EMI foi também comparada entre o grupo de pacientes com DHGNA e o grupo controle. **Resultados:** resistência a insulina, incluindo-se os casos de diabetes mellitus, e elevação dos níveis séricos das enzimas canaliculares hepáticas foram mais frequentes no grupo com EHNA. Com exceção da medida da EMI da artéria carótida interna direita e da medida combinada do lado direito (carótida comum, bifurcação e carótida interna) que foram superiores no grupo ENA, não foram observadas outras diferenças significativas entre esses dois grupos. Não se observou também diferença entre a EMI dos controles e pacientes com DHGNA. **Conclusão:** não se encontrou associação entre a medida da EMI das artérias carótidas por radiofrequência e as formas de apresentação da DHGNA: ENA e EHNA. Os valores da EMI foram também semelhantes entre os pacientes com DHGNA e os controles. As diferenças observadas parecem ter sido resultado do acaso ou de limitações quantitativa e/ou qualitativa da amostra. Dificuldades relativas ao diagnóstico diferencial entre ENA e EHNA e aspectos técnicos da medida da EMI podem ter contribuído para os resultados encontrados, motivo pelo qual eles devem ser interpretados com certa cautela.

ABSTRACT

Introduction: non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a major cause of chronic liver disease in the West. It encompasses a spectrum of clinical and pathological conditions ranging from non-alcoholic steatosis (NAS) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH) to liver fibrosis/cirrhosis. It is frequently associated with metabolic syndrome (MS) and the major cause of death in patients with NAFLD is coronary artery disease. Increased intima-media thickness (IMT) of the carotid arteries is a marker of subclinical cardiovascular disease and seems to be an indicator of NAFLD severity. The aim of this study was to investigate the association between carotid IMT measured by radiofrequency and the clinical forms of NAFLD: NAS and NASH. **Methods:** 34 adult patients with NAS and 20 with NASH were investigated. The two groups' clinical and metabolic characteristics and carotid artery IMT measured by radiofrequency were compared. IMT values of the NAFLD patients were also compared to those of 26 asymptomatic controls, without MS and/or NAFLD. **Results:** insulin resistance including cases of diabetes mellitus, and high canalicular liver enzyme serum levels were more frequent in the NASH group. Except for the right internal carotid artery IMT measurement and the combined measurement of the right side (common carotid artery, carotid bifurcation and internal carotid) that were higher in the NAS group, there were no other significant differences between the groups. However, the NASH group's cardiovascular risk tended to be higher according to the Framingham score. **Conclusion:** no clinically significant association was found between carotid IMT radiofrequency measurements and NAFLD clinical forms: NAS and NASH. IMT of the NAFLD patients was also similar to that of the control group. IMT differences observed between the NAS and NASH groups seem to be related to chance or sample limitations. Thus, they should be interpreted with some caution.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Medida da espessura médio-intimal da artéria carótida comum por radiofrequência.....	27
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição de frequência e estudo comparativo das características clínico-metabólicas e hábitos de vida dos grupos esteatose e esteatohepatite não-alcoólicas	50
Tabela 2. Espessura média-íntima das artérias carótidas e sua análise comparativa entre os grupos esteatose e esteatohepatite não-alcoólicas	51
Tabela 3. Espessura média-íntima das artérias carótidas e sua análise comparativa entre os grupos controle e com doença hepática gordurosa não-alcoólica	51
Tabela 4. Escore de Framingham e análise comparativa entre os grupos esteatose simples e esteatohepatite não-alcoólica	52

LISTA DE ABREVIATURAS

ALAT – alanina aminotransferase
ARIC – *Atherosclerosis Risk in Communities*
ASAT – aspartato-aminotransferase
AVE – acidente vascular encefálico
CC – carótida comum
CCD – carótida comum direita
CCE – carótida comum esquerda
CT - colesterol total
DAC – doença arterial coronariana
DAOP – doença arterial obstrutiva periférica
DCV – doença cardiovascular
DHGNA – doença hepática gordurosa não-alcoólica
DM2 – diabetes mellitus tipo 2
EHNA – esteatohepatite não-alcoólica
EMI – espessura médio-intimal
ENA – esteatose não-alcoólica
HAS – hipertensão arterial sistêmica
HDL – *high density lipoprotein*
HOMA – *homeostatic model assessment*
IAM – infarto agudo do miocárdio
IMC – índice de massa corporal
LDL – *low density lipoprotein*
MESA – *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*
NAFLD – *non-alcoholic fatty liver disease*
RF – radiofrequência
RI – resistência à insulina
SM – síndrome metabólica
TG – triglicérides
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais
US – ultrassonografia
VLDL – *very low density lipoprotein*

SUMÁRIO

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	14
1.1. Introdução	14
1.2. Doença hepática gordurosa não-alcoólica	14
1.2.1. Conceito e história natural	14
1.2.2. Epidemiologia	16
1.2.3. Etiologia e patogênese	17
1.2.4. Diagnóstico	18
1.2.5. Características histológicas	19
1.2.6. Terapêutica	21
1.3. Associação de DCV e DHGNA	22
1.4. EMI das artérias carótidas	23
1.4.1. Medida da EMI	24
1.5. EMI das artérias carótidas e DHGNA	27
1.6. Referências Bibliográficas	29
2. OBJETIVOS	36
2.1. Objetivo Geral	36
2.2. Objetivos específicos	36
3. MÉTODOS	37
3.1. Investigação clínica e laboratorial	39
3.2. Medida da espessura média íntima das carótidas	41
3.3. Análise estatística	43
4. ARTIGO	44
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	64

APÊNDICES

1 – APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	66
2 – APÊNDICE B – Ficha de coleta de dados na 1º consulta	68
3 – APÊNDICE C – Ficha de coleta de dados no retorno	72
4 – APÊNDICE D – Protocolo de espessura médio-intimal das artérias carótidas	74
5 – APÊNDICE E – Protocolo de ultrassonografia hepática	75

ANEXOS

1 – ANEXO 1 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG	77
---	----

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1. Introdução

Doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) é doença hepática crônica de grande prevalência principalmente nos países ocidentais, com acometimento de adultos e crianças. Caracteriza-se pela presença de esteatose hepática detectada pela ultrassonografia (US) ou por estudo histológico do fígado, bem como pela exclusão de ingestão excessiva de álcool e de outras causas de doença hepática crônica. Está frequentemente associada a obesidade, resistência à insulina (RI) e/ou diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e demais componentes da síndrome metabólica (SM) (1,2,3). Atualmente é considerada problema de saúde pública em vários países do mundo. A considerável morbi-mortalidade por doença cardiovascular (DCV) está entre os fatores mais importantes associados a essa condição clínica (4).

Sabe-se que o aumento da espessura do complexo médio-intimal das artérias carótidas é um marcador de DCV subclínica (5). Há também evidências de que a DHGNA esteja associada a aumento da espessura médio-intimal (EMI) das artérias carótidas (6,7,8,9), mas essa questão ainda não foi completamente definida. Com base nesses fatos, é que foi planejado este estudo que teve como objetivo avaliar a EMI das artérias carótidas em adultos com diagnóstico de DHGNA e comparar os valores dessas medidas entre duas diferentes apresentações da DHGNA: esteatose não-alcoólica (ENA) e esteatohepatite não-alcoólica (EHNA).

1.2. Doença hepática gordurosa não-alcoólica

1.2.1. Conceito e história natural

DHGNA é condição clínico-patológica caracterizada pela deposição de lipídios nos hepatócitos, na ausência de ingestão alcoólica significativa e de outra causa específica de esteatose (10,11,12). É condição comum e o seu quadro patológico lembra aquele da lesão hepática induzida pelo álcool.

O termo DHGNA é usado para denominar as várias formas de apresentação da doença hepática, que possui diferentes graus de gravidade – desde a ENA até a EHNA, associada ou não a fibrose e cirrose hepáticas e, raramente, carcinoma hepatocelular (13,14,15).

ENA é caracterizada pela presença de esteatose hepática sem qualquer outra lesão hepatocelular. Já EHNA é definida pela presença de esteatose hepática e inflamação com lesão do hepatócito tipo balonização acompanhada ou não de fibrose ou cirrose (1,15).

Matteoni et al. (1999) (16) classificaram a DHGNA em subtipos conforme a histologia e o desfecho clínico: tipo 1 – esteatose simples; tipo 2 – esteatose associada à inflamação lobular; tipo 3 – esteatose associada à balonização hepatocelular; tipo 4 – esteatose associada à balonização, corpos de *Mallory* ou fibrose. Os subtipos 1 e 2 foram classificados do ponto de vista clinicopatológico como “sem EHNA” (hoje denominados ENA) e os subtipos 3 e 4 foram classificados como EHNA sem e com fibrose, respectivamente.

Em 2005, foi desenvolvida classificação da EHNA, baseada nos achados histológicos, denominada “*NAFLD activity score*”, visando utilização em pesquisas clínicas. Foram atribuídos às alterações histológicas, os seguintes escores, na dependência da sua intensidade: esteatose – 0-3 pontos; inflamação lobular – 0-3 pontos; e balonização hepatocelular – 0-2 pontos. Para o diagnóstico de EHNA são necessários no mínimo 4 pontos, sendo que um dos pontos deve se referir à balonização (17).

Sabe-se que a morbi-mortalidade de causa hepática associada à DHGNA está diretamente relacionada à gravidade da lesão do hepatócito. ENA apresenta, em geral, curso benigno, e progride para fibrose ou cirrose em cerca de 1 a 4% dos casos. EHNA pode evoluir para fibrose em 25 a 50% dos casos, em período de quatro a seis anos; e sua evolução para cirrose ocorre em aproximadamente 20% dos casos, sendo considerada a principal causa de cirrose criptogênica (14,15,16). Como habitualmente observado na cirrose hepática de qualquer etiologia, a cirrose associada à EHNA também pode se descompensar, ser complicada pelo desenvolvimento de carcinoma hepatocelular e recidivar após o transplante de fígado.

A mortalidade global associada à DHGNA varia entre 10 e 12% em período de 10 a 15 anos após o diagnóstico. (3). Há evidências crescentes de que DCVs, particularmente doença arterial coronariana (DAC), lideram as causas de morte em pacientes com DHGNA avançada. Apesar de ainda não ter sido demonstrado de forma inequívoca, existem evidências de que a DHGNA, principalmente a EHNA, além de ser marcador de DCV está também envolvida em sua patogênese (4).

Aproximadamente 45 a 100% dos pacientes com DHGNA são assintomáticos (3,14,18,19). A presença de sintomas ocorre principalmente nos estádios mais avançados da doença e as queixas mais comuns são fadiga e desconforto no quadrante superior direito do abdome (3,14,20). Quando ocorre evolução para cirrose, o quadro clínico tem peculiaridades em relação à cirrose hepática de outras etiologias.

Os seguintes fatores de risco são identificados como preditores de evolução desfavorável da DHGNA: obesidade, DM2, idade acima de 40-50 anos, hipertensão arterial sistêmica (HAS), elevação predominante da aspartato-aminotransferase (ASAT), razão entre ASAT/alanina aminotransferase (ALAT) >1, hipetrigliceridemia, ferro sérico elevado, maior extensão da esteatose e atividade inflamatória mais intensa (14,21). A identificação desses preditores de gravidade da DHGNA tem se mostrado útil na indicação de biopsia hepática, avaliação do prognóstico e indicação de tratamento (14,21).

1.2.2. Epidemiologia

A DHGNA é considerada a doença hepática crônica mais comum dos países ocidentais e possivelmente de todo o mundo. A sua prevalência apresentou crescimento rápido desde que foi inicialmente reconhecida, no início do segundo milênio e, hoje, apresenta proporções de epidemia (22).

Ainda que com limitações, nos últimos anos, as publicações relacionadas aos aspectos epidemiológicos da DHGNA propiciaram maior conhecimento sobre esse tema. Na análise da prevalência da entidade em questão, deve-se levar em consideração não só a região geográfica onde foi feita a investigação, mas, também o método empregado para se diagnosticar a condição (aumento dos níveis séricos das aminotransferases, método de imagem ou estudo histopatológico), as características da população estudada (população geral ou portadora de fatores de risco para a entidade) e o tipo de estudo realizado. Essas variáveis limitam a comparação dos dados existentes.

A prevalência da DHGNA em adultos de meia idade varia entre 2,8 e 46% em todo o mundo (23). Em revisão extensa sobre a epidemiologia da doença na qual foram incluídos 22 estudos relativos à sua prevalência na população norte-americana, empregando-se como métodos diagnósticos elevação das concentrações séricas das aminotransferases ou exames de imagem,

a frequência da DHGNA apresentou variação entre 2,8 e 31%. Em outras partes do mundo, a prevalência da DHGNA na população geral não tem se mostrado muito diferente daquela encontrada nos Estados Unidos da América, sendo 9,3-29,5% na Ásia, 17,1% no México, 4,7-20% na Itália e 30% em Israel (24).

Lazo M. et al. (2011), em uma coorte prospectiva de 11.371 adultos norte-americanos, entre 20-74 anos de idade, participantes do estudo NHANES III (*Third National and Nutritional Examination Survey III*), encontraram prevalência de DHGNA com e sem aumento dos níveis das enzimas hepáticas de 3,1% e 16,4%, respectivamente.

No Brasil, Cotrim et al. (2011), estudaram 1.280 casos de DHGNA e detectaram que a maioria correspondia a indivíduos do sexo masculino, na sexta década de vida, obesa ou com sobrepeso e dislipidêmica. Observaram também que 41,3% dos casos apresentavam SM (25).

1.2.3. Etiologia e patogênese

A DHGNA está associada primariamente a fatores metabólicos que compreendem: obesidade, RI ou DM2, SM e dislipidemia – especialmente a hipetrigliceridemia.

O aumento da resistência periférica à insulina é fator primordial tanto na indução da hiperinsulinemia como do aumento da atividade lipolítica no tecido periférico. Em decorrência da lipólise aumentada, o fígado passa a metabolizar maior quantidade de ácidos graxos, além daqueles que são procedentes da absorção entérica, a partir do processo de digestão. Em situação normal, os ácidos graxos que chegam ao fígado podem ser oxidados para formação dos corpos cetônicos, utilizados na produção de energia, ou esterificados para formação de triglicérides (TGL) para o armazenamento de energia. Os TGL combinam-se com o colesterol e fosfolipídios para formar as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), que constituem a principal forma de excreção hepatocitária de TGL. Entretanto, a hiperinsulinemia reduz o processo de oxidação mitocondrial e aumenta a esterificação. Além disso, inibe a produção de VLDL determinando bloqueio na excreção de TGL; dessa forma, ocorre acúmulo de TGL no citoplasma do hepatócito, desenvolvendo-se a esteatose hepática. O acúmulo progressivo de gordura no fígado induz estresse oxidativo, que determina peroxidação lipídica, com conseqüente produção de radicais livres. Estes estão envolvidos em

reações químicas de ativação de citocinas, migração de polimorfonucleares, formação de corpúsculos hialinos, morte celular e fibrose. Dessa forma, estabelece-se a EHNA (26).

Embora esse modelo hipotético explique a grande maioria dos casos de DHGNA, existem indivíduos nos quais, aparentemente, não há RI. Variações genéticas relacionadas à DHGNA têm sido estudadas na tentativa de explicar a patogênese da doença em situações específicas (27,28,29). Outro aspecto a ser considerado refere-se ao envolvimento de drogas que interferem nos processos mitocondriais de oxidação lipídica (26,30).

Em síntese, embora muito se saiba sobre como a gordura se acumula no fígado, o mecanismo de lesão hepatocelular ainda é pouco conhecido. A patogênese da EHNA é multifatorial e o excesso de ácidos graxos intracelulares, estresse oxidativo, peroxidação lipídica, esgotamento de ATP, diminuição dos antioxidantes, adipocitocinas, fator de crescimento (TGF)- β e disfunção mitocondrial são mecanismos importantes de lesão hepatocelular no fígado gorduroso. O estresse oxidativo é um dos mecanismos propostos mais populares de lesão hepatocelular. Sabe-se que este pode resultar em alterações no DNA da mitocôndria, o que pode aumentar a propensão à necrose. (31,32).

1.2.4. Diagnóstico

A DHGNA caracteriza-se pela presença de gordura hepática superior a 5-10% do peso do fígado. Por definição, o diagnóstico clínico requer a presença de esteatose ou injúria celular e a exclusão de outras causas de lesão esteatótica do fígado, particularmente uso do álcool (3). Fatores genéticos/metabólicos como lipodistrofias, doenças mitocondriais, doença de Weber-Christian, doença de Wilson; medicamentos, solventes ou produtos tóxicos industriais como metotrexate, amiodarona, tamoxifeno, análogos dos nucleosídeos, tetraclorido carbônico, percloroetileno, bromido etílico e petroquímicos; nutrição parenteral total e situações de desnutrição como Kwashiorkor e doença celíaca; e finalmente, após cirurgias como *bypass* gástrico ou jejuno-ileal apesar de poderem causar esteatose hepática, não fazem parte da DHGNA e devem ser excluídos para se fazer o diagnóstico desta entidade (3).

A US abdominal, apesar das limitações, é o método de imagem mais utilizado para o diagnóstico da DHGNA. A sua sensibilidade para detectar esteatose hepática varia entre 60 e

94% e está diretamente relacionada à quantidade de gordura presente no fígado. A especificidade é 88-95%. Não permite diferenciação entre ENA e EHNA (1,33).

A tomografia computadorizada com contraste apresenta sensibilidade de aproximadamente 93% quando há acometimento de mais de 33% dos hepatócitos (33). Tanto a ressonância magnética (RM) convencional como a espectroscopia por RM são métodos confiáveis para se detectar esteatose hepática de grau leve – 5% de gordura hepática –, com sensibilidade e especificidade de 85% e 100%, respectivamente. No entanto, não são utilizados rotineiramente porque apresentam limitações relacionadas ao custo e/ou disponibilidade (33).

Biopsia hepática é considerada o padrão ouro para diagnóstico e diferenciação dos vários estádios da DHGNA, porém, não está indicada em todos os casos. Embora ainda não haja consenso, a maioria dos autores indicam a realização de biopsia na presença de fatores clínicos/metabólicos preditores de maior gravidade histológica – idade acima de 40-50 anos, presença de SM, elevação persistente das aminotransferases, relação ASAT/ALAT >1, história familiar de EHNA ou cirrose criptogênica –, quando há necessidade de diagnóstico diferencial com outra hepatopatia e nos casos em que se deseja informação mais acurada sobre o prognóstico da doença (21).

Outros métodos não-invasivos como o *NAFLD Fibrosis Score* (1,33) e o *Enhanced Liver Fibrosis* (1), que são baseados em variáveis clínicas e laboratoriais, tem sido usados na distinção entre fígado fibrótico do não-fibrótico. A elastografia também tem sido muito utilizada para identificar fibrose avançada (1).

1.2.5. Características histológicas

Como mencionado acima, ENA é caracterizada do ponto de vista histológico pela presença de esteatose hepática sem qualquer outra lesão hepatocelular e a EHNA por esteatose e inflamação com lesão do hepatócito tipo balonização acompanhada ou não de fibrose ou cirrose (1,15).

Diante da lacuna de sistema de graduação e de estadiamento universal que refletisse o padrão morfológico e o dano hepático visto na EHNA, Brunt et al. (1999) revisaram biopsias hepáticas de 51 pacientes com o diagnóstico de EHNA para graduar a atividade

necroinflamatória e estadiar a fibrose. Foram avaliadas 10 variáveis: 1) esteatose macrovacuolar, graduada de 0 a 3, conforme percentual de hepatócitos envolvidos na biopsia (0- nenhuma; 1- até 33%; 2- 33 a 66%; 3- >66%) e sua localização no ácino hepático; esteatose microvesicular foi apenas anotada; 2) balonização hepatocelular e desordem das traves de hepatócitos foram topografadas no ácino e a balonização estimada em ocasional ou frequente conforme o número de hepatócitos acometidos; 3) inflamação lobular, graduada de 0 a 3 conforme o número de focos inflamatórios em objetiva de 20x e ocular de 20x (0- ausente; 1- 1 a 2 focos; 2- até 4 focos e 3- >4 focos); os tipos de células inflamatórias foram descritos e a sua localização, registrada; 4) inflamação do trato portal, graduada em discreta, moderada e acentuada; os tipos de células inflamatórias foram registrados; 5) hilião de Mallory, graduado em 0- ausente, 1- ocasional, 2- diversos; o corpúsculo foi descrito como sutil (abortivo) ou bem formado; registrada a sua localização e avaliada a presença ou ausência de satelitose; 6) corpúsculos acidófilos, contados em objetiva de 20x e graduados à semelhança da inflamação lobular; 7) células de Kupffer PAS diastase resistentes, contadas e graduadas a exemplo da inflamação lobular; 8) núcleos glicogenados, graduados de 0 a 3 (0- nenhum, 1- raros, 2- diversos, 3- numerosos) e observada a localização; 9) lipogranulomas, classificados em raros, ocasionais ou diversos, e anotados os componentes celulares; 10) ferro hepatocelular, graduado de 0 a 4+.

A classificação histológica mais frequentemente empregada é aquela proposta por Brunt et al. (1999), conforme a seguinte descrição: grau I- <33% de hepatócitos acometidos; grau II- 33 a 66%; e grau III- >66% de hepatócitos acometidos. A EHNA é caracterizada pela presença de esteatose associada a inflamação lobular e balonização hepatocelular ou pela presença de esteatose associada a qualquer estágio de fibrose. O estadiamento da fibrose é graduado como: estágio I- fibrose localizada na zona três perivenular, perisinusoidal, ou fibrose pericelular; estágio II- fibrose periportal focal ou extensa; estágio III- fibrose em ponte focal ou extensa; e estágio IV- cirrose (34).

A balonização caracteriza-se pela presença de grandes células redondas com citoplasma reticulado. Denota injúria grave dos hepatócitos, caracterizando a EHNA. É considerada marcador de apoptose e a sua presença na DHGNA está associada a aumento da mortalidade por causas hepáticas (35,15).

A presença de corpos de *Mallory-Denk* no citoplasma dos hepatócitos não é específica da EHNA. Esse fenômeno relaciona-se às proteínas celulares visíveis microscopicamente sob a forma de grumos hialinos no citoplasma, semelhantes a vidro, com aspecto homogêneo e fortemente eosinofílico. Apesar de também estar associado a apoptose, o seu significado clínico e prognóstico ainda não estão bem definidos. Em estudo recente, Younossi et al. (2011) observaram que dos pacientes com EHNA que tiveram mortalidade confirmada por causa hepática, 89% apresentavam corpos de *Mallory-Denk* à análise histológica das biópsias de fígado (35). Fibrose hepática foi também identificada como fator de risco independente para óbito por causa hepática nos indivíduos acometidos por EHNA (15,35,36).

1.2.6. Terapêutica

A abordagem do paciente com DHGNA tem como objetivo impedir que a doença progrida para as formas mais graves, principalmente fibrose e cirrose e suas complicações; tratar os fatores associados à SM e, finalmente, diminuir o risco de desenvolver DCV.

A mudança no estilo de vida é recomendação padronizada e usualmente prescrita para esses pacientes. Consiste fundamentalmente na incorporação de dieta com restrição calórica e na realização de atividade física regular (37). Apesar de haver poucos estudos randomizados que comprovam melhora histológica com essa forma de tratamento, em geral, a mudança no estilo de vida promove melhoria dos fatores associados à DHGNA, como a DM, a obesidade, a HAS e a dislipidemia. Recomenda-se perda de peso próxima de 5% do peso inicial para redução da esteatose hepática e em torno de 10% para melhora da necroinflamação (1).

A terapêutica farmacológica inclui os sensibilizadores de insulina, os antioxidantes e os agentes hepatoprotetores. No entanto, não estão indicados para todos os casos de DHGNA. A pioglitazona pode ser utilizada para tratar aqueles pacientes com EHNA comprovada por biópsia hepática, entretanto, pouco se sabe a respeito da segurança e eficácia do uso dessa droga a longo prazo (1). Vitamina E (α tocoferol) atua sob o estresse oxidativo, mecanismo chave para o dano hepatocelular e para a progressão da doença. Está indicada na dose de 800UI/dia em pacientes não-diabéticos sem cirrose (1). O aminoácido ômega-3 para o tratamento específico da DHGNA ainda não está recomendado, entretanto, pode ser considerado no tratamento desses pacientes com hipertrigliceridemia (1).

A cirurgia bariátrica não é contra-indicada para tratamento de obesos com DHGNA; entretanto, não é utilizada para tratamento específico da doença hepática (1). Por fim, o consumo de grandes quantidades de álcool está contra-indicado nesses pacientes. (1).

1.3. Associação de DCV e DHGNA

Há evidências de que pacientes com DHGNA apresentam frequentemente o grupo de anormalidades que compõem a SM; portanto, possuem múltiplos fatores de risco para desenvolverem DCV.

A avaliação do risco cardiovascular pelo escore de Framingham e a investigação da ocorrência de DAC definida por critério clínico e/ou angiográfico, em período de 10 anos, foram os objetivos de estudo populacional que incluiu 309 pacientes com DHGNA bem caracterizada. Quarenta e um pacientes foram a óbito. A principal causa de morte foi o carcinoma hepatocelular (42%) e a segunda, DAC (24%). Os autores concluíram que os pacientes com DHGNA apresentavam alto risco para DAC; e também demonstraram que o escore de risco de Framingham predisse, com acurácia, o risco cardiovascular em 10 anos, daquela população (38).

Estudos prospectivos publicados na última década mostraram associação entre DHGNA e a ocorrência de eventos cardiovasculares.

Targher et al. (2007) demonstraram alta prevalência de DAC, doença cerebrovascular e doença arterial obstrutiva periférica (DAOP) em aproximadamente 3000 pacientes com DM2 e DHGNA, comparados àqueles sem esses diagnósticos (39). Demonstraram também associação entre DHGNA diagnosticada por US e aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não-fatais, independentemente dos fatores de risco clássicos, em população italiana de 2.103 pacientes com DM2, acompanhada por aproximadamente 6 anos (40).

Aumento do risco de eventos cardiovasculares não-fatais associados à DHGNA diagnosticada por US, independentemente da idade, sexo, índice de massa corporal (IMC), tabagismo, consumo de álcool, pressão arterial, LDL colesterol, TGL e HDL colesterol, também foi

observado em estudo japonês que incluiu 1.637 participantes, com idade entre 22 e 83 anos (41).

Há suspeita de que a DHGNA não seja meramente um marcador de DCV, mas esteja também envolvida na sua patogênese (40,42,43). Um possível mecanismo subjacente que relaciona DHGNA e as DCVs poderia ser o aumento do estresse oxidativo hepático e a inflamação crônica. Portanto, a forte associação entre DHGNA e SM explica a alta mortalidade por causa cardiovascular observada em pacientes com DHGNA (16).

Nesse contexto, encontra-se o desafio do manejo dos pacientes com SM e DHGNA, pois, podem desenvolver tanto DCV como agravamento da doença hepática.

1.4. EMI das artérias carótidas

A medida, pela US, da EMI das artérias carótidas estimada conforme sexo, idade e raça é um instrumento não-invasivo largamente utilizado na investigação de DCV subclínica nos últimos anos (5, 44).

Vários indivíduos, apesar de apresentarem doença aterosclerótica, não têm consciência do risco cardiovascular por não apresentarem sintomas. Com isso, 30 a 50 % apresentam infarto agudo do miocárdio (IAM) ou morte súbita como primeira manifestação de doença aterosclerótica. Essas manifestações clínicas geralmente ocorrem em indivíduos que não receberam os benefícios das terapias preventivas, ou porque não sabiam que eram portadores da doença ou porque foram classificados erroneamente em grupo de baixo risco.

Sabe-se, com base em evidências, que elevada porcentagem de indivíduos assintomáticos, com risco baixo ou intermediário, pela classificação de Framingham, desenvolvem DCV muitas vezes desastrosa. Portanto, a avaliação da EMI das carótidas é também utilizada na reclassificação de risco cardiovascular desses indivíduos (45).

Várias diretrizes para avaliação e prevenção de DCV recomendam o uso da medida da EMI como marcador de risco. Essa medida está indicada principalmente nas seguintes situações: risco cardiovascular intermediário, presença de dois ou mais fatores de risco para DCV,

presença de SM, história familiar de DAC prematura, *score* de cálcio zero, ou risco Framingham estimado em 11-20% (46).

Em estudo prospectivo, 3.073 europeus assintomáticos, entre 54 e 79 anos de idade, com três ou mais fatores de risco para DAC, foram submetidos a avaliação da EMI nas paredes anterior e posterior das carótidas comum e interna e na bifurcação carotídea, bilateralmente. Os autores concluíram que o aumento da EMI das carótidas é preditor independente de eventos cardiovasculares nessa população e que esse marcador contribui significativamente para a melhoria da predição de risco quando associada aos fatores de risco relacionados ao *score* Framingham (47).

Em coorte prospectiva, estudo ARIC (*Atherosclerosis Risk in Communities*) (48), analisou-se o risco de IAM (49), acidente vascular encefálico (AVE) (50) e DCV associados ao aumento da EMI das carótidas em vários sítios de medida. O risco absoluto de IAM associado ao aumento da média da EMI acima de 1 mm foi 1,3% e 1,4% para homens e mulheres, respectivamente; para AVE o risco foi 0,5% para ambos os sexos. Quando se avaliou o risco relativo entre a maior e a menor medida da EMI, com vários sítios de medidas e ajustado para idade e raça, obteve-se 1,8 e 5,1 para IAM, 2 e 3,3 para AVE em homens e mulheres, respectivamente. Segundo os autores, esses resultados sugerem que a medida da EMI das carótidas como preditor de risco para IAM é melhor em mulheres do que em homens.

A medida da EMI por sinal de radiofrequência (RF) empregando-se o programa denominado *Quality Intima-media Thickness – (RF QIMT)* foi realizada em 115 pacientes com média de idade $65,1 \pm 12$ anos, portadores de DAC, com obstrução, comprovada por angiografia, $\geq 70\%$ em pelo menos uma coronária considerada importante. Para os pacientes com medidas da EMI $>0,9\text{mm}$ e $<1,5\text{mm}$, encontrou-se correlação entre o número de coronárias com obstrução significativa e o aumento da EMI das carótidas (51).

1.4.1. Medida da EMI

A medida do complexo médio-intimal das artérias carótidas pode ser feita de forma automática ou manual, utilizando-se imagem ultrassonográfica ao modo bidimensional. Há duas maneiras de ser realizada: *offline* ou *online*. No modo *offline* as imagens são gravadas e as medidas da EMI são realizadas de forma automática ou manual, em um momento diferente

daquele utilizado para aquisição das imagens. O modo *online* permite que a medida também seja realizada das duas maneiras, manual ou automática, no mesmo momento da aquisição das imagens e no próprio aparelho onde se realiza o exame. Outra maneira de se medir a EMI *online* é por sinal de RF. A medida da EMI por RF é realizada de forma automática, com a imagem em movimento e é obtida por sistema de rastreamento da parede do vaso sanguíneo que processa os sinais brutos de RF que são recebidos ao longo de uma única linha de observação (*M-line*). A RF permite o acesso simultâneo às propriedades da parede arterial, como a distensibilidade, o que facilita o estudo mais detalhado das características intrínsecas da parede. Possui foco que está numa escala de 300 a 900 μ m possibilitando maior precisão da medida. A resolução da amostra da medida (*pixels*) varia com a frequência da RF, mas é infinitamente menor do que a amostra da medida pelo modo bidimensional (52). Considera-se para a definição do valor da EMI, a média de seis medidas no local com melhor resolução de imagem e menor desvio padrão entre os valores das medidas.

A imagem bidimensional exibida na tela dos aparelhos de US, deriva do sinal bruto de RF do transdutor (46). Portanto, essa imagem tem característica não-linear na escala de cinza, o que torna o modo bidimensional pouco sensível para a avaliação das propriedades das paredes dos vasos sanguíneos. No entanto, por meio da tecnologia de dados por RF encontrada em certos aparelhos, denominada *Quality Intima-Media Thickness -^{RF}QIMT* (Esaote S.P.A., Itália), é possível realizar-se a avaliação das paredes dos vasos sanguíneos utilizando-se 100% dos dados recebidos, resolvendo-se, assim, o grande desafio dessa técnica que são a qualidade da imagem e a qualidade da medida da EMI.

A caracterização ultrassonográfica da EMI deve ser realizada com o vaso sanguíneo em corte longitudinal, as paredes bem alinhadas, de maneira em que se forme um padrão de dupla linha com definição das interfaces luz-íntima e média-adventícia. A distância entre as duas interfaces acústicas é considerada a medida da EMI. Estrutura focal estendendo-se no mínimo 0,5 mm para a luz do vaso, ou medindo mais de 50% do complexo médio-intimal adjacente ou EMI maior que 1,5 mm são considerados placa ateromatosa (46).

Há vários protocolos descritos para a medida da EMI. O protocolo utilizado neste estudo foi aquele descrito no estudo ARIC (48), segundo o qual se realiza a medida da EMI de maneira automática na parede posterior, em três segmentos das carótidas à direita e à esquerda: no mínimo 1cm proximalmente à dilatação do bulbo carotídeo, 1cm proximalmente ao divisor de

fluxo – referido como bifurcação – e 1cm distalmente ao divisor de fluxo na carótida interna. Recomenda-se imagem fundamental ao modo bidimensional, preferencialmente com frequências do transdutor maior que 7MHz, sendo essa imagem analisada no eixo longitudinal, onde o segmento arterial é mais perpendicular ao feixe de ultrassom, com ajuste adequado do ganho e da profundidade. As imagens carotídeas devem ser obtidas nos acessos anterior, posterior ou no esternocleidomastóideo, perfazendo-se a imagem mais retilínea possível e com o padrão de dupla linha bem definido para ser selecionada e realizada a medida.

Conforme recomendação da *American Society of Echocardiography*, a aquisição e armazenamento das imagens devem ser feitas em DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*) para análises futuras, caso necessário (44). Após aquisição dos dados numéricos da EMI, os valores máximos ou médios serão comparados com valores de referência já existentes (44).

A determinação da EMI por radiofrequência parece ser mais precisa, pois, a medida é realizada em tempo real e durante o procedimento é necessário alinhamento correto da parede da carótida, bem como, respeito aos limites determinados para o desvio padrão e número de medições, motivo pelo qual é considerada uma medida mais confiável. Esse método graças à evolução tecnológica possibilita a redução da variabilidade intra e inter-observadores, apesar de não eliminar totalmente o viés (51,53).

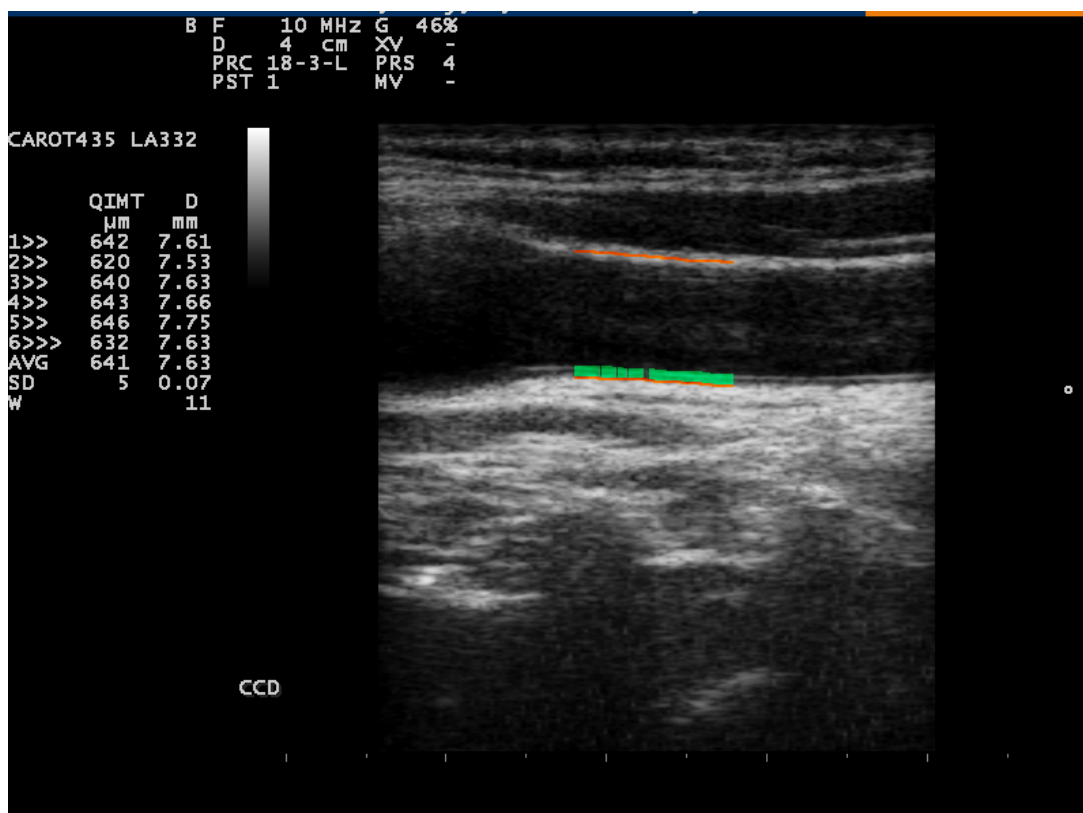


Figura 1. Medida da EMI da artéria carótida comum por radiofrequência.

1.5. EMI das artérias carótidas e DHGNA

Alguns estudos sugerem que DHGNA é preditor independente de aumento da EMI, enquanto que SM, presente em 72,5% (54) a 80% (55) dos pacientes com DHGNA, apresenta associação independente com a placa aterosclerótica carotídea (42, 54, 55). Como DCV é causa importante de morte nos pacientes com DHGNA, alguns pesquisadores dedicaram-se ao estudo da EMI das carótidas nesses indivíduos. Nos diversos estudos nos quais se investigou a EMI no contexto da DHGNA, empregou-se para a medida da EMI, a técnica ultrassonográfica ao modo bidimensional.

Em estudo no qual foram incluídos 31 crianças e adolescentes obesos com DHGNA diagnosticada histologicamente, não se encontrou diferença entre a EMI das carótidas desse grupo de pacientes quando comparados ao grupo controle, constituído por 49 crianças e adolescentes obesos, porém, sem DHGNA, pareados pelo sexo, idade e IMC. Não foi observada também associação entre o padrão histológico da doença hepática e a EMI (56). Resultado semelhante foi encontrado por Francanzani et al. (2008) em adultos. Apesar de ter sido constatada diferença da média da EMI entre os indivíduos com DHGNA e controles

saudáveis, não se observou diferença quando se comparou os grupos ENA e EHNA, tanto a partir do diagnóstico da DHGNA por método de imagem, como por biópsia do fígado (6). Os autores ainda observaram que esteatose hepática, seguida pela idade e pressão arterial sistólica foram significativamente associadas ao aumento da EMI em toda a população do estudo (casos e controles). Os valores de referência tiveram como base a medida da EMI do grupo controle.

Por outro lado, Targher et al. (2006) em estudo que incluiu 85 pacientes portadores de DHGNA, confirmada por biópsia hepática, e 160 indivíduos do mesmo sexo, idade e IMC sem este diagnóstico, encontraram forte associação entre maior gravidade da DHGNA e aumento da média da EMI e, também, presença de doença aterosclerótica carotídea, independentemente dos fatores de risco clássicos como resistência a insulina e presença de SM. Os 85 pacientes portadores de DHGNA apresentaram valores da EMI mais elevados quando comparados aos 160 controles; e os 16 pacientes com ENA apresentaram valores da EMI inferiores quando comparados aos 69 pacientes portadores de EHNA. No entanto, por se tratar de estudo transversal, os autores concluem pela necessidade de confirmação dos achados em futuras investigações (7).

Em investigação na qual foram incluídos 100 pacientes com DHGNA, diagnosticada por US, e DM2 controlado e 100 controles diabéticos sem DHGNA, observou-se aumento da medida máxima da EMI das carótidas nos diabéticos com DHGNA. Esse aumento da EMI permaneceu significativo após ajustes para largo espectro dos fatores de risco cardiovasculares, mas desapareceu após ajuste adicional para o índice HOMA (*homeostatic model assessment*). À análise multivariada, o índice HOMA, a idade e a SM apresentaram associação independente com a EMI, o mesmo não ocorrendo com a DHGNA (8).

Metanálise, na qual se analisou o total de 3.497 indivíduos pertencentes a sete estudos referentes à associação entre DHGNA e medida da EMI das artérias carótidas e ateromatose carotídea, três deles já citados anteriormente (6,7,8), mostrou que EMI aumentada está fortemente associada a DHGNA e que os portadores de DHGNA apresentam aumento de 13% na medida da EMI quando comparados a indivíduos sem essa condição (43). No entanto, é importante ressaltar que o método utilizado para diagnóstico de DHGNA diferiu entre os estudos – US em quatro deles e biópsia em três – o que até certo ponto, limita a comparação dos resultados.

1.6. Referências bibliográficas

1. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55:2005-23.
2. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2005; 41:1313-21.
3. Caldwell SH, Argo CK, Al-Osaimi AMS. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. In: Schiff ER, Maddrey WC, Sorrell MF, eds. *Schiff's diseases of the liver*. USA: Wiley-Blackwell, 2011: 868-906.
4. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2010; 30:1341-50.
5. Stein JH, Fraizer MC, Aeschlimann SE, Nelson-Worel J, McBride PE, Douglas PS. Vascular Age: Integrating Carotid Intima-Media Thickness Measurements with Global Coronary Risk Assessment. *Clin Cardiol* 2004; 27:388-92.
6. Fracanzani AL, Burdick L, Raselli S, Pedotti P, Grigore L, Santorelli G, et al. Carotid Artery Intima-media Thickness in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Am J Med* 2008; 121:72-8.
7. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Zoppini G, Zenari L, et al. Relations Between Carotid Artery Wall Thickness and Liver Histology in Subjects With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Diabetes Care* 2006; 29:1325-30.
8. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Poli F, Scala L, Zenari L, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with carotid artery wall thickness in diet-controlled type 2 diabetic patients. *J Endocrinol Invest* 2006; 29:55-60.

9. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, et al. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: A meta-analysis. *Hepatology* 2011; 54:1082-90.
10. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126:137-45.
11. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346:1221-31.
12. Sass DA, Chang P, Chopra KB. Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review. *Dig Dis Sci* 2005; 50:171-80.
13. Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia* 2008; 51:1947-53.
14. McCullough AJ. The clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8: 521-33.
15. Pagadala MR, McCullough AJ. The relevance of liver histology to predicting clinically meaningful outcomes in nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 487-504.
16. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-19.
17. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-21.

18. Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ. Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin Liver Dis* 2001; 1: 17-26.
19. Clark JM, Diehl AM. Defining nonalcoholic fatty liver disease: implications for epidemiologic studies. *Gastroenterology* 2003; 24: 248-50.
20. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 136-45.
21. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent Predictors of Liver Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-62.
22. Bellentani S, Marino M. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol* 2009; 8: S4-8.
23. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M et al. Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis Among a Largely Middle-Aged Population Utilizing Ultrasound and Liver Biopsy: A Prospective Study. *Gastroenterology* 2011; 140: 124-31.
24. Lazo M, Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 339-50.
25. Cotrim HP, Parise ER, Oliveira CPMS, Leite N, Martinelli A, Galizzi J et AL. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Ann Hepatol* 2011; 10: 33-7.
26. Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: human data. *Clin Liver Dis* 2007; 11: 75-104.
27. McCullough AJ, Pathophysiology of Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: S17-29.

28. Merriman RB, Aouizerat BE, Bass NM. Genetic influences in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: S30-33.
29. Day CP. Genes or environment to determine Alcoholic Liver Disease and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Liver Intern* 2006; 26: 1021-8.
30. Ferolla SM. Dissertação de mestrado: Padrão Dietético Habitual na Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica. UFMG 2010.
31. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sentürk H. From fatty liver to fibrosis: a tale of "second hit". *World J Gastroenterol* 2013; 19:1158-65.
32. Caldwell SH, Chang CY, Nakamoto RK, Krugner-Higby L. Mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8: 595-617.
33. Grandison GA, Angulo P. Can Nash Be Diagnosed, Graded and Staged Noninvasively? *Clin Liver Dis* 2012; 16: 567-585.
34. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR: Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-74.
35. Younossi ZM, Stepanova M, Rafiq N. Pathologic criteria for nonalcoholic steatohepatitis: interprotocol agreement and ability to predict liver-related mortality. *Hepatology* 2011; 53: 1874-82.
36. Fukusato T, Fukushima J, Shiga J. Interobserver variation in the histopathological assessment of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2005; 33: 122-7.
37. Mahady SE, George J. Management of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 631-45.

38. Treeprasertsuk S, Leverage S, Adams LA, Lindor KD, St Sauver J, Angulo P. The Framingham risk score and heart disease in nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2012; 32: 945-50.
39. Targher G, Bertolini L, Padovani R et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2007; 30: 1212-18.
40. Targher G, Bertolini L, Tessari R, Zenari L, Lippi G, Rodella S. Nonalcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased incidence of cardiovascular events in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2007; 30: 2119-21.
41. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N et al. Nonalcoholic fatty liver disease is a novel predictor of cardiovascular disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1579-84.
42. Brea A, Mosquera D, Martin E, Arizti A, Cordero JL, Ros E. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with carotid atherosclerosis: a case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1045-50.
43. Sookoian S, Pirola CJ. Non alcoholic fatty liver disease is strongly associated with carotid atherosclerosis: A systematic review. *J Hepatol* 2008; 49: 600-7.
44. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. ASE consensus statement - Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 93-108.
45. Morteza N, Erling F, Harvey SH, Jamieson MJ, Kaul S, Berman D et al. From Vulnerable Plaque to Vulnerable Patient-Part III: Executive Summary of the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force Report. *Am J Cardiol* 2006; 98: 2H-15H.

46. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Borstein N et al. Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus 2004-2006-2011. *Cerebrovasc Dis* 2012; 34: 290-6.
47. Baldassare D, Hamsten A, Veglia F, Faire U, Humphries SE, Smit AJ et al. Measurements of Carotid Intima-Media Thickness and of Interadventitia Common Carotid Diameter Improve Prediction of Cardiovascular Events. *JACC* 2012; 20: 1-11.
48. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA, et al for the ARIC Investigators. Carotid Artery Intimal-Medial Thickness Distribution in General Populations as evaluated by B-Mode Ultrasound. *Stroke* 1993; 24: 1297-304.
49. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Clegg LX et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors; the ARIC study. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 483-94.
50. Chambless LE, Folsom AR, Szklo M, Clegg LX, Sharret AR, Rosamond W et al. Carotid wall thickness is predictive of incidental clinical stroke. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 478-87.
51. Ciccone MM, Scicchitano P, Zito A, Agati L, Gesualdo M, Fedele F. Correlation between coronary artery disease severity, left ventricular mass index in carotid intima media thickness, assessed by radio-frequency. *Cardiovasc Ultrasound* 2011; 32: 1-8.
52. Dogan S, Plantinga Y, Dijk JM, Van der Graaf Y, Grobbee DE, Bots ML, SMART Study Group. Manual B-Mode Versus Automated Radio-Frequency Carotid Intima-Media Thickness Measurements. *J Am Soc Echocardiogr* 2009; 22: 1137-44.
53. Bianchini E, Bazec E, Gemignani V, Faita F, Giannarelli C, Ghiadoni L, et AL. Assessment of Carotid Stiffness and Intima-Media Thickness From Ultrasound Data. Comparison Between Two Methods. *J Ultrasound Med* 2010; 29: 1169-75.

54. National Cholesterol Education Program (NCPE) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Treatment Panel III). JAMA 2001; 285: 2486-97.

55. Alberti KGMM, Zimmet PZ, for the WHO Consultation: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. Diabet Med 1998; 15: 539-53.

56. Manco M, Bedogni G, Monti L, Morino G, Natali G, Nobili V. Intima-media thickness and liver histology in obese children and adolescents with non-alcoholic fatty liver disease. Atherosclerosis 2010; 209: 463-8.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Avaliar a EMI das artérias carótidas em pacientes com DHGNA e comparar os valores dessas medidas entre duas diferentes apresentações da doença: ENA e EHNA.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil clínico-metabólico dos pacientes com DHGNA e compará-lo entre as duas formas de apresentação da doença;
- Determinar o risco cardiovascular dos pacientes com DHGNA, segundo o escore de Framingham, e compará-lo entre as duas formas de apresentação da doença;
- Medir a EMI das artérias carótidas dos pacientes com DHGNA e comparar os resultados entre as duas formas de apresentação da doença e com grupo controle constituído por indivíduos sem SM e/ou DHGNA.

3. MÉTODOS

Trata-se de estudo observacional, de delineamento transversal, comparativo de grupos desenvolvido no Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa não-Alcoólica do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brasil. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Anexo 1) e todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1) após terem sido esclarecidos sobre a pesquisa.

Foram incluídos 54 pacientes (44 mulheres e 10 homens; idade média $54 \pm 11,5$ anos) com DHGNA assistidos entre agosto/2010 e outubro/2011 e 26 controles (17 mulheres e nove homens; idade média $54 \pm 14,5$ anos) selecionados aleatoriamente dentre indivíduos sem SM e/ou DHGNA encaminhados pelo médico assistente para medida da EMI como parte de *check-up*, devido à presença de ao menos um fator de risco para DCV. No entanto, nenhum dos indivíduos do grupo controle apresentava diagnóstico conhecido de diabetes mellitus.

DHGNA foi diagnosticada segundo os critérios da *American Gastroenterological Association* (AGA): esteatose hepática confirmada por US abdominal e/ou biópsia hepática; exclusão de outras causas de doença hepática (hepatopatia alcoólica – caracterizada pela ingestão de álcool $>30\text{g}/\text{dia}$ para homens e $>20\text{g}/\text{dia}$ para mulheres, por período igual ou superior a um ano; hepatites B e C, hepatite auto-imune, doença de Wilson, deficiência de alfa-1-antitripsina e hemocromatose hereditária – caracterizadas pelos marcadores específicos); ausência de história prévia de cirurgia de *by pass* gástrico ou *by pass* jejuno-ileal; e ausência de uso nos últimos seis meses de drogas que sabidamente podem causar esteatose hepática (1).

1. Loria P, Adinolfi LE, Bellentani S, Bugianesi E, Grieco A, Fargion S, et al. The NAFLD Expert Committee of the Associazione Italiana per lo studio del Fegato (AISF). Practice guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: A decalogue from the Italian Association for the Study of the Liver (AISF) Expert Committee. *Dig Liver Dis* 2010; 42:272-82.

SM foi definida conforme critérios da *Harmonizing the Metabolic Syndrome*: presença de três ou mais das seguintes condições: obesidade abdominal (circunferência da cintura ≥ 90 cm no sexo masculino e ≥ 80 cm no sexo feminino), hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dl), baixas concentrações de HDL-colesterol (< 40 mg/dl no sexo masculino e < 50 mg/dl no sexo feminino), hipertensão arterial (pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg e diastólica ≥ 85 mmHg), e hiperglicemia de jejum (≥ 100 mg/dl) configura o diagnóstico (2).

Para a análise do risco cardiovascular, empregou-se o escore de Framingham. A equação do risco de Framingham foi computada como a probabilidade de desenvolvimento de um evento coronariano em 10 anos, por sexo, utilizando-se os seguintes parâmetros: idade, colesterol total, colesterol HDL, tabagismo, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e diabetes mellitus. Os pacientes foram classificados em grupos, quanto ao risco cardiovascular em 10 anos: $< 10\%$ baixo risco, $\geq 10\%$ e $\leq 20\%$ risco intermediário, e $> 20\%$ alto risco (3).

Considerou-se como praticante de atividade física, os indivíduos que realizavam, no mínimo, exercícios de leve intensidade, caracterizados como atividades da rotina diária (4). Tabagismo foi definido pelo uso atual ou pregresso do tabaco, sem tempo determinado.

2. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120:1640-5.

3. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AMBS, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of Coronary Heart Disease Using Risk Factor Categories. *Circulation* 1998; 97:1837-47.

4. Pollock ML, Gaesser GA, Butcher JD, Despres JP, Dishman RK, Franklin BA, et al. ACSM Position Stand: The Recommended Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory and Muscular Fitness, and Flexibility in Healthy Adults. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:975-91.

3.1. Investigação clínica e laboratorial

Na primeira consulta, colhia-se a história clínica, conforme protocolo de atendimento (Apêndice 2) e realizava-se exame físico minucioso e avaliação antropométrica, que incluía medida do peso (Kg), estatura (cm), circunferência da cintura (cm) – menor medida entre o rebordo costal e a espinha ilíaca ântero-superior – e cálculo do IMC – peso (Kg) / altura (m)² (5).

De acordo com o IMC os pacientes foram classificados em: peso normal (IMC <25Kg/m²), sobrepeso (IMC ≥25 e <30 Kg/m²), obeso (IMC ≥30 e <35 Kg/m²) e obeso mórbido (IMC ≥35 Kg/m²). Para efeito de análise considerou-se os seguintes grupos: não-obesos (IMC <30Kg/m²) e obesos (IMC ≥30Kg/m²).

A investigação laboratorial incluiu: bioquímica hepática, perfil lipídico, ácido úrico sérico, TSH, insulina sérica e glicemia de jejum. Todos os exames foram realizados após 12 horas de jejum no mesmo laboratório por técnicas convencionais.

RI nos pacientes não-diabéticos foi calculada por meio do índice HOMA – insulina sérica (μU/ml) × glicemia de jejum (mmol/l) / 22,5 –, sendo definida por valores de HOMA ≥3 (6). Para fins de análise, o total de pacientes com resistência à insulina foi calculado acrescentando-se àqueles com índice HOMA ≥3, os indivíduos diabéticos – pacientes em uso regular de hipoglicemiante oral e/ou insulina e/ou glicemia de jejum ≥126mg/dl em dois momentos diferentes da avaliação.

O diagnóstico de DHGNA pela US fundamentou-se em critérios padronizados (7). Todos os exames foram realizados por um único examinador, que desconhecia os demais exames complementares do paciente, empregando-se o mesmo equipamento.

5. Alberti KGMM, Zimmet PZ, for the WHO Consultation: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15:539-53.

6. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. The Homeostasis Model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 1997; 20:1087-92.

7. Sanyal AJ. American Gastroenterological Association. AGA Technical Review on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2002; 123:1705-25.

A indicação de biópsia hepática fundamentou-se nas seguintes recomendações: diagnóstico diferencial com outras hepatopatias quando este se fazia necessário; avaliação de prognóstico na presença de esteatose hepática moderada ou grave à US e de critérios considerados preditores de maior gravidade da DHGNA – obesidade e/ou DM2 e/ou SM (8,9); presença de aumento persistente das aminotransferases séricas a despeito da adesão ao tratamento não-medicamentoso e/ou relação ASAT/ALAT >1 (10), na ausência de plaquetopenia ou qualquer distúrbio de coagulação que contra-indicasse a biópsia. Para a análise histológica, utilizou-se o protocolo empregado de rotina pelo Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG, que se fundamenta na classificação de Kleiner et al. (2005) (11). Nos casos em que a pontuação era ≥ 5 confirmava-se o diagnóstico de EHNA.

Requeriu-se para o diagnóstico de EHNA aumento das enzimas hepáticas (ASAT e/ou ALAT) por período igual ou superior a seis meses e/ou confirmação histológica pela análise de biópsia hepática. Para inclusão no estudo, dos casos nos quais o intervalo de tempo entre realização da biópsia e a medida da EMI das carótidas foi superior a um ano, requereu-se persistência, por período igual ou superior a seis meses, de elevação das aminotransferases.

Após a confirmação do diagnóstico de DHGNA, os pacientes foram divididos em dois grupos: ENA e EHNA, para o estudo comparativo das características clínico-metabólicas e EMI.

8. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. AASLD Position Paper-Liver Biopsy. *Hepatology* 2009; 49:1017-44.

9. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55:2005-23.

10. Caldwell SH, Argo CK, Al-Osaimi AMS. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. In: Schiff ER, Maddrey WC, Sorrell MF, eds. *Schiff's diseases of the liver*. USA: Wiley-Blackwell, 2011:868-906.

11. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2005; 41:1313-21.

3.2. Medida da espessura média íntima das carótidas

A medida da EMI das carótidas foi realizada por radiofrequência empregando-se aparelho de ultrassom portátil de alta resolução (Esaote MyLab™ 30 e Esaote MyLab™ 60 Gold Cardiovascular, Itália), com transdutor linear, frequência de 10 MHz (LA332), por um único examinador que não tinha conhecimento prévio do grupo ao qual pertencia o paciente.

Empregou-se como protocolo para a medida da EMI, aquele descrito no estudo ARIC (12). A EMI foi medida de maneira automática na parede posterior, em três segmentos das carótidas direitas e esquerdas: no mínimo 1cm proximalmente à dilatação do bulbo carotídeo, 1cm proximalmente ao divisor de fluxo – referido como bifurcação – e 1cm distalmente ao divisor de fluxo na carótida interna. Utilizou-se para a medida, a imagem fundamental ao modo bidimensional, sendo essa imagem analisada no eixo longitudinal, onde o segmento arterial é mais perpendicular ao feixe de ultrassom. Foi identificado o padrão de dupla linha ultrassonográfica com definição das interfaces íntima-média e média-adventícia. A distância entre as duas interfaces acústicas foi considerada a medida da EMI. Das imagens carotídeas obtidas nos acessos anterior, posterior ou no esternocleidomastóideo, a imagem mais horizontal – retilínea – e com o padrão de dupla linha mais bem definido foi a selecionada para se realizar a medida. Utilizou-se o *software*^{RF} QIMT (Esaote S.P.A., Itália), que realiza, de forma automática, a medida da EMI em tempo real tendo como referência a análise direta do sinal de RF.

A medida é realizada ponto a ponto (*M-line*) aproximadamente 1cm proximalmente à origem do bulbo carotídeo. A medida nesse local é recomendada pelo fabricante para garantir a reprodutibilidade. Esse local por ser mais distante da bifurcação tem menor possibilidade de apresentar placa ateromatosa. Considerou-se para a definição do valor da EMI, a média de seis medidas no local com melhor resolução de imagem e menor desvio padrão entre os valores das medidas (Figura 1). Essa técnica é considerada de alta precisão e reprodutibilidade. Para esse estudo, foi definida como placa ateromatosa carotídea a medida da EMI $\geq 1,5\text{mm}$ (13).

12. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA, et al for the ARIC Investigators. Carotid Artery Intimal-Medial Thickness Distribution in General Populations as evaluated by B-Mode Ultrasound. Stroke 1993; 24:1297-304.

13. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim Carotid Intima-media Thickness Consensus (2004-2006). Cerebrovasc Dis 2007; 23:75-80.

A aquisição e armazenamento das imagens foram feitos em DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*) para análises futuras, caso necessário, como recomendado pela *American Society of Echocardiography*, em 2008 (14).

Após aquisição dos dados e de posse dos valores numéricos médios da EMI, estes foram comparados a tabelas com valores de referência disponíveis na literatura (14). Utilizaram-se como valores de referência para os pacientes com idade ≥ 45 anos, a tabela do estudo MESA (*Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*), que tem como base os valores de população hispânica (15); e para aqueles com idade < 45 anos, a tabela do estudo AXA (14,16,17), que se refere à população francesa com idade média de 43 ± 9 anos (homens) e 42 ± 9 anos (mulheres). Foi necessária a utilização das duas tabelas, visto que, a tabela MESA refere-se somente a pacientes com idade ≥ 45 anos; e no presente estudo foram incluídos pacientes com idade inferior a esta. Essas tabelas fornecem dados sobre a EMI média da carótida comum (CC) categorizada em quartis por idade, sexo e raça.

Analisou-se ainda, neste estudo, medida combinada da EMI das artérias carótidas caracterizadas da seguinte forma: medida combinada-1 – média das medidas da EMI da artéria carótida comum direita (CCD) e artéria carótida comum esquerda (CCE); medida combinada-2 – média do somatório das medidas da EMI da artéria CC, bifurcação carotídea e artéria carótida interna à direita (CID); medida combinada-3 – como na medida combinada-2, à esquerda.

14. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. ASE consensus statement - Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21:93-108.

15. Bild DE, Bluemke DA, Burke GL, Detrano R, Roux AVD, Folsom AR, et al. Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis: Objectives and Design. *Cerebrovasc Dis* 2007; 23:75-80.

16. Gariépy J, Salomon J, Denarié N, Laskri F, Mégnien JL, Levenson J, et al. Sex and Topographic Differences in Associations Between Large-Artery Wall Thickness and Coronary Risk Profile in a French Working Cohort: The AXA Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:584-90.

17. Denarie N, Gariépy J, Chironi G, Massonneau M, Laskri F, Salomon J, et al. Distribution of ultrasonographically-assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis* 2000; 148:297-302.

Foram considerados como de alto risco para DCV, valores de EMI acima do percentil 75. Para se avaliar o risco cardiovascular de cada paciente com base no percentil 75, considerou-se o maior valor da EMI média da CC à direita e à esquerda (18).

3.3. Análise estatística

Ao término do estudo os dados foram analisados empregando-se o *software* estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 18 (SPSS Inc, Chicago, IL). As variáveis contínuas foram comparadas entre os dois grupos por meio do teste t ou ANOVA ou testes não-paramétricos Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis, conforme indicado. Para comparação das proporções foram empregados o teste qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher, quando apropriado.

18. Eleid MF, Lester SJ, Wiedenbeck TL, Patel SD, Appleton CP, Nelson MR, et al. Carotid Ultrasound Identifies High Risk Subclinical Atherosclerosis in Adults with Low Framingham Risk Scores. *J Am Soc Echocardiogr* 2010; 23:802-8.

4. ARTIGO

Relation between intima-media thickness of the carotid arteries and non-alcoholic fatty liver disease presentations: non-alcoholic steatosis and non-alcoholic steatohepatitis

Ana Cristina Lopes Albricker^I, Claudia Alves Couto^{II}, Tâmara Oliveira Reis^I, Maria Luiza Pereira Lima^I, Paula Vieira Teixeira Vidigal^{III}, Clara Gontijo Camelo^{IV}, Teresa Cristina Abreu Ferrari^{II}

^IAlfa Institute of Gastroenterology, University Hospital, Universidade Federal de Minas Gerais. ^{II} Department of Internal Medicine, School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais. ^{III}Department of Pathology and Forensic Medicine, School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais. ^{IV}Medical student, School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais.

Corresponding author: Teresa Cristina Abreu Ferrari, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Professor Alfredo Balena 190, 30130-100, Belo Horizonte, MG, Brazil. Tel: +55 31 3409 9746, Fax: +55 31 3409 9664.
E-mail: tferrari@medicina.ufmg.br

ABSTRACT

Introduction: non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a major cause of chronic liver disease in the West. It encompasses a spectrum of clinical and pathological conditions ranging from non-alcoholic steatosis (NAS) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH) to liver fibrosis/cirrhosis. It is frequently associated with metabolic syndrome (MS) and the leading cause of death in patients with NAFLD is coronary artery disease. Increased intima-media thickness (IMT) in the carotid arteries is a subclinical cardiovascular disease marker and it is also thought to be an indicator of NAFLD severity. The aim of this study was to investigate the association between carotid IMT measured by radiofrequency and the clinical forms of NAFLD: NAS and NASH. **Methods:** 34 adult patients with NAS and 20 with NASH were investigated. The two groups' clinical and metabolic characteristics and carotid artery IMT measured by radiofrequency were compared. IMT values of the NAFLD patients were also compared to those of 26 asymptomatic controls without MS and/or NAFLD. **Results:** insulin resistance including cases of diabetes mellitus and high canalicular liver enzyme serum levels were more frequent in the NASH group. Except for the right internal carotid artery IMT measurement and the combined measurement of the right side (common carotid artery, carotid bifurcation and internal carotid) that were higher in the NAS group, there were no other significant differences between the groups, neither when the NAFLD and control groups were compared. **Conclusion:** no clinically significant association was found between carotid IMT radiofrequency measurements and NAFLD manifestation forms: NAS and NASH. IMT of the NAFLD patients was also similar to that of the control group. IMT differences observed between the NAS and NASH groups seem to be related to chance or sample limitations. Thus, they should be interpreted with some caution.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatosis, nonalcoholic steatohepatitis, intima-media thickness in the carotid arteries.

INTRODUCTION

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) encompasses a spectrum of increasingly severe clinicopathological conditions – non-alcoholic steatosis (NAS), non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and fibrosis/cirrhosis – and is characterized by the deposition of fat in the liver in an amount exceeding 5-10% of its weight. It is frequently associated with the metabolic syndrome (MS), which has led many authors to suggest that NAFLD may represent the hepatic component of this syndrome. NAFLD has reached epidemic proportions in the last decade and is one of the most common causes of chronic liver disease in Western countries (1,2).

Mortality associated with NAFLD, 10-15 years after its diagnosis, is about 10-12% and significantly higher in patients with the more advanced stages of this condition. In this same time interval, the risk of progression to cirrhosis is 5-10%, and 1-2% to hepatocellular carcinoma (2). Overall, the published studies showed that the higher mortality rate among NAFLD patients in comparison to the general population is mainly due to concomitant cardiovascular disease and liver-related causes. Increasing number of studies have shown that cardiovascular diseases are more decisive in determining the outcome in patients with NAFLD than does the progression of the liver disease (3,4,5,6). The strong association between NAFLD and MS may explain the high cardiovascular mortality observed in this disorder (7). Furthermore, accumulating evidence suggests that NAFLD is a risk factor for coronary artery disease independently of established risk factors (8,9,10,11).

Increased carotid artery intima-media thickness (IMT) is considered a surrogate marker of early generalized atherosclerosis and subclinical cardiovascular disease (12). There is evidence that NAFLD is associated with increased IMT and the MS with the presence of carotid atherosclerosis plaque (13,14,15). Recent studies addressed to investigate IMT measurement of an indicator of severity of NAFLD, by using ultrasound (US) to measure IMT, demonstrated controversial results (16,17,18). Clarification of this aspect may be of clinical importance in planning preventive and therapeutic strategies as well may help in the differential diagnosis between NAS and NASH. Thus, considering this unresolved issue, we investigated the association between the clinical NAFLD forms – NAS and NASH –, and the carotid IMT, measured by radiofrequency, which is considered more accurate than the US methods (19,20).

METHODS

This is a case-control study that included 54 consecutive outpatients (44 women and 10 men, mean age 54 ± 11.3 years) with NAFLD and 26 asymptomatic controls without MS and or NAFLD (17 women and nine men, mean age 54 ± 14.5 years), who were recruited from the Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Clinic of the University Hospital, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil, between August/2010 and October/2011. The study was approved by the UFMG's Ethics Committee and all the participants signed the informed consent term.

NAFLD was diagnosed according to the criteria of the American Gastroenterological Association (AGA): hepatic steatosis confirmed by US and/or liver biopsy, exclusion of other causes liver of disease (namely alcohol intake $>30\text{g/day}$ for men and $>20\text{g/day}$ for women, markers of chronic B and C hepatitis virus infections, auto-immune hepatic disorders, Wilson disease, hemochromatosis, and alpha-1-antitripsin deficiency), no history of prior gastric or jejunoileal bypass, no exposure to hepatotoxins, and no use of any drug known to cause hepatic steatosis during the last six months (21).

MS was defined by the presence of three or more of the following conditions: abdominal obesity (waist circumference $\geq 90\text{cm}$ in men and $\geq 80\text{cm}$ in women), hypertriglyceridemia ($\geq 150\text{mg/dl}$), and low HDL cholesterol level ($< 40\text{mg/dl}$ in men and $< 50\text{mg/dl}$ in females), hypertension (systolic blood pressure $\geq 130\text{mmHg}$ and diastolic $\geq 85\text{mmHg}$) and fasting hyperglycemia ($\geq 100\text{mg/dl}$) (22).

To analyze cardiovascular risk, we used the Framingham score. The Framingham risk equation was computed as the probability of developing a coronary event within 10 years, by gender, using the following parameters: age, total cholesterol, HDL cholesterol, smoking, systolic blood pressure, diastolic blood pressure and diabetes mellitus. Patients were classified into three groups for cardiovascular risk in 10 years: $< 10\%$ low risk, $\geq 10\%$ and $\leq 20\%$ intermediate risk, and $> 20\%$ high risk (23).

Individuals who performed at least mild exercise, characterized as daily routine activities, were considered physically active (24). Smoking was defined as current or previous use of tobacco with no set time frame.

Clinical and laboratorial investigation

All patients underwent clinical, anthropometric, laboratory and ultrasound evaluations soon after inclusion in the study. Anthropometric data included: weight (kg), height (m), waist circumference (cm) – measured in a standing position midway between the lower limit of the rib cage and the iliac crest –, and body mass index (BMI) – weight/height (kg/m²) (13). For purposes of analysis, non-obese was defined as BMI <30kg/m² and obese BMI ≥30kg/m². Waist circumference ≥90cm in men and ≥80cm in women was defined as high.

Laboratory assessment included: liver biochemistry, lipid profile, serum uric acid, TSH and fasting serum insulin and glucose. Insulin resistance in non-diabetic patients was calculated using the homeostatic model assessment index (HOMA) – serum insulin (μU/ml) × fasting glucose (mmol/l)/22.5 – and insulin resistance was defined by HOMA values ≥3 (25). For analysis purposes, the total of patients with insulin resistance was counted by adding to the number of individuals with HOMA ≥3, those with diabetes – patients on regular oral hypoglycemic and/or insulin and/or fasting glucose ≥126mg/dl evaluated at two different occasions.

Liver biopsy was indicated according to the following recommendations: differential diagnosis with other liver diseases when needed; assessment of prognosis in the presence of moderate or severe hepatic steatosis on US and presence of predictors of severity (obesity and/or type 2 diabetes mellitus and/or SM) (26,27); persistently elevated levels of aminotransferases in spite of compliance with medication, and/or aspartate aminotransferase (AST)/alanine aminotransferase (ALT) ratio >1 (2). For the histological analysis, we used the classification of Kleiner et al. (2005) (28), whereby a score >5 confirms the diagnosis of NASH.

Diagnosis of NAFLD by US was based on standard criteria (29). US were performed in all subjects using the same equipment and by the same operator, who was unaware of the clinical and laboratory results. The diagnosis of NASH was defined by the histological criteria and/or by the persistence of elevated levels of AST and/or ALT for a period equal to or higher than six months. For the cases in which time lapse between the biopsy and measurement of IMT

was more than one year, the diagnosis of NASH was established by elevated aminotransferase levels, as described.

Measurement of carotid intima-media thickness

Measurement of carotid IMT was performed by radiofrequency using a portable high resolution US device (Esaote MyLab 30 and Esaote MyLab 60 Gold™ Cardiovascular, Italy) with a 10MHz frequency linear transducer (LA332). All exams were performed by the same operator was unaware of the diagnosis.

IMT measurement was carried according to a protocol previously described (30). IMT was measured automatically in the far (deeper) wall of three segments of the right and left extracranial carotid arteries: at least 1cm proximal to the dilation of the carotid bulb, 1cm proximal to the flow divider – referred to as the bifurcation –, and 1cm distal to the flow divider in the internal carotid. The basic two-dimensional mode image was used for the measurement. It was evaluated along the longitudinal axis, where the arterial segment is more perpendicular to the ultrasound beam. The ultrasonographic dual line pattern was identified allowing the definition of the intima-media and media-adventitia interfaces. The distance between the two acoustic interfaces was taken as the IMT measure. Of the carotid images obtained in the anterior, posterior or sternocleidomastoid accesses, the most horizontal one – straight line – with the best defined dual line pattern was selected for performing the measurement. We used ^{RF}QIMT software (Esaote SPA., Italy), which automatically measures IMT in real time with direct analysis of the radiofrequency (RF) signal as reference. This signal is obtained with a wall tracking system that processes the raw RF signals that are received along a single line of observation (M-line processing). The RF measurements are performed in the distal common carotid artery 1 cm proximal to the origin of the carotid bulb. Measurement at this location is recommended to ensure reproducibility as it is a region relatively far from the carotid bifurcation; and therefore, less likely to lodge atheromatous plaque. The IMT value was defined as the average of six measurements at the location with better image resolution and lower standard deviation among the values of the measures, (Figure 1).

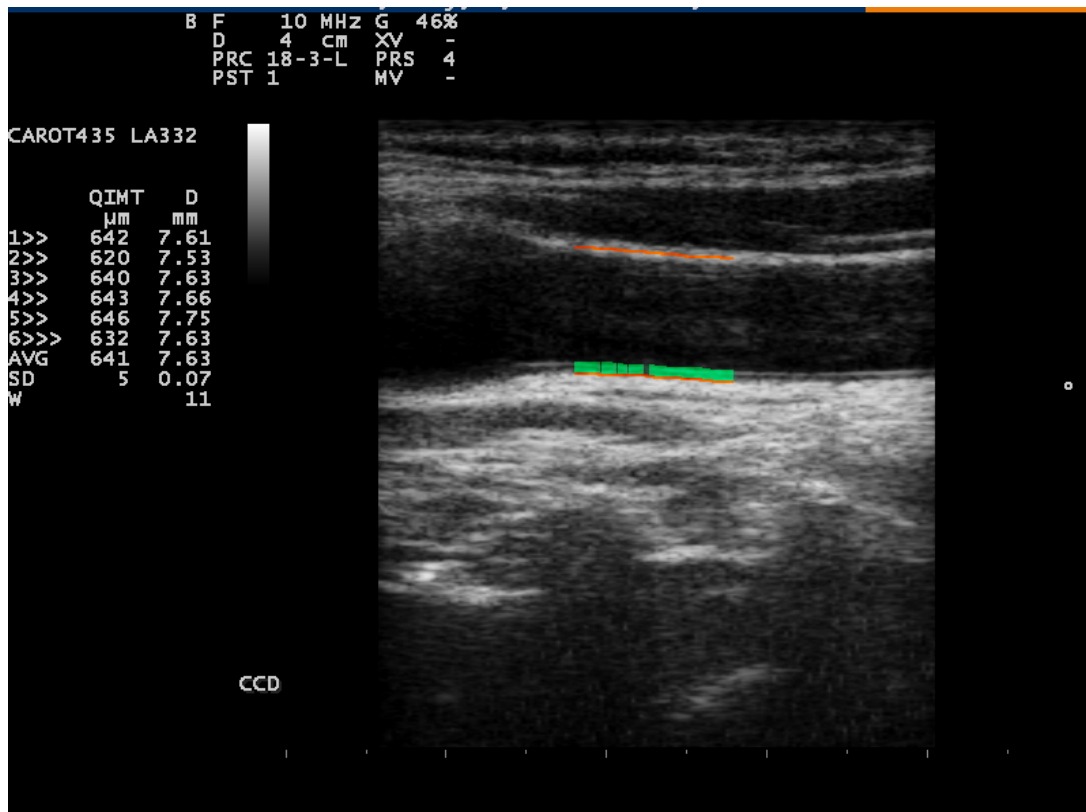


Figure 1. Measurement of intima-media thickness of the common carotid artery using radiofrequency.

Images were acquired and stored in Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) for further analyses, if necessary (31). The IMT values were analyzed by comparison with reference values defined in large population studies. For the patients aged ≥ 45 years, the reference values were those of the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA), which refers to the Hispanic population (32); and for the individuals with age < 45 years, those of the study related to the French population, employees of an insurance company (AXA, Paris, La Defense, France). (31,33,34).

IMT values above the 75th percentile of the reference values were considered as high risk for cardiovascular disease (35). To evaluate the cardiovascular risk of each patient based on the 75th percentile, the greatest mean value for the right and left common carotid artery (CC) IMT was selected. Atheromatous carotid plaque was defined as IMT values ≥ 1.5 mm (36). We also analyzed combined measurements of carotid IMT characterized as follows: combined measurement-1 – the mean value of IMT of the right and left CC; combined measurement-2 – mean of the total sum total of IMT of the CC, carotid bifurcation and the internal carotid artery on the right; combined measurement-3 – such as combined measurement-2, on the left.

Statistical analysis

Continuous variables were compared between the groups using a t test and ANOVA or the non-parametric Mann-Whitney and Kruskal Wallis tests as indicated. To compare proportions, the chi-square test or Fisher's exact test, were employed as appropriate. The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 18 software (SPSS Inc. Chicago, IL) was used for statistical analysis. The values of $p \leq 0.05$ were deemed statistically significant.

RESULTS

Of the 54 patients included in the study, 34 (63.0%) were diagnosed with NAS and 20 (37.0%) with NASH. Of the 34 NAS patients, the diagnosis of eight (23.5%) was confirmed by liver biopsy, while in the NASH group the diagnosis was established by biopsy in 14 cases (70.0%). The mean age was 54.9 ± 12.8 years (21-78 years) in the NAS group and 54.6 ± 7.5 years (41-69 years) in the NASH group ($p=0.933$). The results of the comparative analysis regarding clinical and metabolic characteristics of the NAS and NASH groups are described in Table 1. The proportions of patients with insulin resistance and with high serum levels of alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transferase (GGT) were higher in the NASH group. There was no other significant difference between these groups.

Of the 26 controls, 17 (65.4%) were woman and nine (34.6%) were men. The mean age was 54 ± 14.5 years. There was no difference among the NAS, NASH and control groups regarding sex distribution ($p = 0.168$) and median age ($p = 0.168$).

Table 1. Frequency distribution and comparative analysis of the clinical and metabolic characteristics and lifestyle habits of the non-alcoholic steatosis and steatohepatitis groups.

Variable	Groups		p value
	NAS N/N (%)	NASH N/N (%)	
Gender			0.471 ²
Male	5/34 (14.7)	5/20 (25.0%)	
Female	29/34 (85.3%)	15/20 (75.0%)	
Hypertension	21/29 (72.4%)	15/20 (75.0%)	0.840 ¹
Metabolic syndrome	24/33 (72.7%)	15/19 (78.9%)	0.440 ²
Circ. increased waist	32/33 (97.0%)	19/19 (100.0%)	1.000 ²
Obesity (BMI \geq 30)	19/33 (57.6%)	12/18 (66.7%)	0.525 ¹
Framingham risk score >20%	10/32 (31.3%)	7/20 (35.0%)	0.779 ¹
Physical activity	16/31 (51.6%)	10/20 (50.0%)	0.910 ¹
Smoking	9/31 (29.0%)	9/20 (45.0%)	0.244 ¹
Low HDL cholesterol	19/34 (55.9%)	10/20 (50.0%)	0.675 ¹
LDL cholesterol >100mg/dl	24/34 (58.8%)	14/20 (70.0%)	0.964 ¹
High triglycerides	20/34 (58.8%)	9/20 (45.0%)	0.325 ¹
Resistance to insulin ³	16/34 (47.1%)	18/20 (90.0%)	0.002 ¹
AST/ALT>1	4/34 (11.8%)	5/20 (25.0%)	0.266 ²
High FA	4/34 (11.8%)	8/20 (40.0%)	0.039 ²
High GGT	17/34 (50.0%)	16/20 (80.0%)	0.029 ¹
High US CRP	19/27 (70.4%)	14/18 (77.8%)	0.735 ²
Statin use	12/28 (42.9%)	4/20 (20.0%)	0.098 ¹

NAS: non-alcoholic steatosis. NASH: non-alcoholic steatohepatitis. N/N: frequency found/number of cases with available information; Circ.: Circumference. BMI: body mass index. ALT: alanine aminotransferase. AST: aspartate aminotransferase; AP: alkaline phosphatase. GGT: gamma-glutamyl transferase; CRP US: ultrasensitive C-reactive protein; ³includes cases of diabetes mellitus and those with HOMA> 3; ¹chi-square test; ²Fisher's exact test.

A total of 54 patients underwent carotid IMT measurement as detailed below for the NAS and NASH groups, respectively: CC bilaterally, 34 (100%) and 20 (100%); right carotid bifurcation, 31 (91.1%) and 14 (70.0%); left carotid bifurcation, 22 (64.7%) and 15 (75.0%); right internal carotid, 22 (64.7 %) and 12 (60.0%); left internal carotid, 21 (61.7%) and 11 (55.0%); combined measurement-1, 34 (100%) and 20 (100%); combined measurement-2, 25 (73.5%) and 17 (85.0%); combined measurement-3, 22 (64.7%) and 16 (80.0%). All patients came to the clinic to perform the IMT measurement. Technical difficulties prevented the measurement of IMT in all anatomic regions.

The values of carotid IMT and their comparative analysis between the NAS and NASH groups are described in Table 2. In both groups, IMT values were below the 75th percentile in approximately 60% of the patients. The IMT of the right internal carotid artery and combined measurement-2 were significantly higher in the NAS group. IMT value of the left CC was also higher in the NAS group, although without statistical significance. There were no other differences between the groups. Atheromatous plaque was found in small numbers of patients in both groups, eight in NAS group and six in NASH group, and there was no case with significant carotid stenosis.

Table 2. Intima-media thickness of the carotid arteries and their comparative analysis between non-alcoholic steatosis and steatohepatitis groups

Variable	IMT mean/median (mm)		p value
	NAS group (n=34)	NASH group (n=20)	
Artery			
R Common carotid	0.64/0.67	0.61/0.61	0.263 ²
L Common carotid	0.71/0.70	0.65/0.61	0.066 ¹
R Carotid bifurcation	0.63/0.61	0.58/0.57	0.239 ¹
L Carotid bifurcation	0.68/0.70	0.64/0.62	0.420 ²
R Internal carotid	0.55/0.55	0.49/0.45	0.028 ¹
L Internal carotid	0.48/0.46	0.54/0.52	0.196 ²
Combined 1 (RCC/LCC)	0.68/0.69	0.63/0.62	0.118 ²
Combined 2 (RCC/ R Bif /RCI)	0.63/0.63	0.57/0.57	0.023 ²
Combined 3 (LCC/ L Bif /LCI)	0.64/0.61	0.63/0.59	0.679 ¹
	N/N (%)	N/N (%)	
Percentile ≥ 75	14/34 (41.2%)	8/20 (40.0%)	0.932 ³
Atheromatous plaque present	8/34 (23.5%)	6/20 (30.0%)	0.600 ³

IMT: intima-media thickness; NAS: Non-alcoholic steatosis, NASH: non-alcoholic steatohepatitis; L: left; R: right; CC: common carotid artery; Bif: carotid bifurcation; IC: internal carotid artery, N/N: frequency found/number of cases with available information; ¹ Mann-Whitney; ² t test; ³ chi-square test.

Table 3 presents the carotid IMT values and their comparative analysis between the NAFLD and control groups. No significant differences were observed.

Table 3. Intima-media thickness of the carotid arteries and their comparative analysis between non-alcoholic fat liver disease and control group

Variable	IMT mean/median (mm)		p value
	NAFLD group (n=54)	Control group (n=26)	
Artery			
R Common carotid	0.63/0.63	0.65/0.63	0.582 ²
L Common carotid	0.69/0.67	0.62/0.59	0.610 ¹
R Carotid bifurcation	0.62/0.60	0.60/0.61	0.731 ¹
L Carotid bifurcation	0.66/0.64	0.63/0.60	0.358 ²
R Internal carotid	0.53/0.52	0.52/0.49	0.853 ²
L Internal carotid	0.50/0.48	0.44/0.44	0.078 ²
Combined 1 (RCC/LCC)	0.66/0.66	0.64/0.64	0.429 ²
Combined 2 (RCC/ R Bif /RCI)	0.61/0.61	0.59/0.59	0.506 ²
Combined 3 (LCC/ L Bif /LCI)	0.64/0.60	0.56/0.58	0.720 ¹
	N/N (%)	N/N (%)	
Percentile ≥ 75	22/54 (41.7%)	6/26 (23.1%)	0.121 ³

IMT: intima-media thickness; NAFLD: Non-alcoholic fat liver disease; L: left; R: right; CC: common carotid artery; Bif: carotid bifurcation; IC: internal carotid artery, N/N: frequency found/number of cases with available information; ¹ Mann-Whitney; ² t test; ³ chi-square test

The comparative analysis between the groups concerning the cardiovascular risk according to the Framingham score is described in Table 4.

Table 4. Framingham score and comparative analysis between simple steatosis and non-alcoholic steatohepatitis groups

Groups	Framingham Score (risk)			p value
	Low	Intermediate	High	
Non-alcoholic steatosis (n = 32)	16 (50.0%)	5 (15.6%)	11 (34.4%)	0.088
Non-alcoholic steatohepatitis (n = 24)	6 (30.0%)	2 (10.0%)	12 (60.0%)	

Linear-by-Linear Association

DISCUSSION

In this study we evaluated carotid IMT in NAFLD patients and compared their values to health controls and between the subjects with NAS and NASH in order to investigate possible association between NAFLD severity and IMT values. To our best knowledge, this is the first study relating to NAFLD and carotid IMT measurement employing radiofrequency technique.

The comparison of IMT values between NAFLD patients and the control group showed no difference. Concerning the comparative analysis between NAS and NASH groups, except for the higher IMT median of the right internal carotid artery and combined measurement-2 in the NAS group, and the tendency of higher left CC IMT also in the NAS group, no difference was found in any other anatomic regions evaluated. Neither there was any difference between these groups when comparing the proportion of patients with IMT values higher than the IMT corresponding to the 75th percentile of the reference populations (31).

The lack of difference between the NAFLD patients and the control group may be due to the fact the control group was not totally free of cardiovascular risk factors. Indeed, these patients presented at least one risk factor for cardiovascular disease. Thus, the pro-atherogenic metabolic profile seen in patients with NAFLD could also be present in the control group.

The fact that atherosclerosis progresses faster in the bulb and internal carotid might be an explanation for the difference between the groups regarding the IMT values of the right internal carotid and the combined measurement-2, since it is in this area that IMT becomes larger earlier. However, contrary to the expectations, higher IMT values were found in the NAS group; furthermore, it was observed only on one side. Thus, it is likely that the observed difference is due to the relatively small sample size or solely to chance. The use of statins could be a confusing factor since administering these agents for longer than one year may stabilize or even reduce IMT (37). However, there was no difference between the proportions of patients with NASH and NAS that did or did not take statin.

Clinical and metabolic changes often associated with the more severe NAFLD forms are obesity, age over 40-50 years, diabetes mellitus and hypertension (38). All of these manifestations as well the MS were observed in most patients of both NAFLD groups. The similarity between the NAS and NASH groups concerning the clinical and metabolic profile

may have been the major cause for the lack of difference of the IMT values between them. This similarity certainly is partly due to misclassification of some cases since the criteria to differentiate NAS from NASH have limitations, even when based on liver biopsy, which is the best diagnostic tool for diagnosing NASH (39). The more frequent occurrence of insulin resistance and higher serum levels of the canalicular enzymes (alkaline phosphatase and GGT) in the NASH group suggest that the majority of the cases were properly classified as NASH or NAS. Insulin resistance plays an important role in the pathogenesis and progression of NAFLD (40); and, elevated liver enzymes is more frequent in the presence of more significant hepatic injury. Including in the study only patients who underwent liver biopsy would certainly minimize the possibility of incorrect classification of the cases, but, on the other hand, could lead to predominant inclusion of more severe cases, since these patients fulfill more frequently the classical criteria for indicating biopsy.

In a study in which carotid IMT was measured by US in 31 obese children and adolescents histologically diagnosed with NAFLD, and in 49 obese subjects without NAFLD, matched by sex, age and BMI, there was neither IMT difference between the groups nor association between the histological pattern of NAFLD and IMT (16). A similar result was found by Francanzani et al. (2008) in adults in whom IMT was also measured by US. Although the mean IMT of the individuals with NAFLD was higher than that of the healthy controls, no difference was observed when comparing the NAS and NASH groups, diagnosis by both imaging method and liver biopsy (17). On the other hand, in a study including 85 liver biopsy confirmed NAFLD patients and 160 individuals matched by gender, age and BMI without this diagnosis, Targher et al. (2006) found a strong association between NAFLD severity and increased IMT measured by US, and also with the presence of carotid atherosclerosis, independently of classical risk factors such as insulin resistance and MS. The 85 patients with NAFLD presented higher IMT values in comparison with the 160 controls; and the 16 patients with NAS presented lower IMT values compared to the 69 subjects with NASH (18).

In predicting cardiovascular risk, an IMT value at or above the 75th percentile, as defined in large population studies, is considered to be high risk for cardiovascular disease (30,31). Unlike the other investigations with similar goals, we performed automatic measurement of IMT using radiofrequency signal, which has been considered more accurate since the measurement is performed in real time, and, during the procedure, it is necessary to correctly align the carotid walls, as well to respect the limits set for both standard deviation and number

of measurements (20,42). However, this form of analysis of IMT is still of limited use and has not been employed in the other studies aimed to investigate associations between IMT and NAFLD. In the present study, most patients of both groups presented IMT values below the 75th percentile. This IMT cutoff was defined in populational studies that did not use RF technology (31). Thus, the different techniques may have influenced the results. As the majority NASH patients presented IMT below the 75th percentile, and these patients theoretically exhibit higher cardiovascular risk, the cut point for RF technique might be different from the 75th percentile used. Another explanation related to the technique is the fact that the measurement of IMT in the CC was carried out at least 1cm proximal to the origin of the bulb, where atheromatous plaque is less likely to be found (43). This seems to be one of the reasons for the lower range of the IMT medians of the CC (9mm) compared to those of the carotid bifurcation (13mm) and internal carotid (10mm).

Measurements of IMT of the carotid bifurcation and internal carotid artery were not performed in a significant proportion of cases due to technical constraints, which did not occur in relation to the CC. It is easier to obtain a straight line image of this arterial segment, which favors the positioning of the ultrasound beam perpendicularly and then IMT measurement. Even using the best image from the three angles, it was possible to measure IMT in the carotid bifurcation and the internal carotid artery on the right and left, respectively, in only 83.3% and 62.9%, and 68.5% and 59.2% of cases. In the ARIC study, the percentage of valid measurements in these areas was also lower than those found in CC (68%, 82% and 37%, 63% in the carotid bifurcation and in the internal carotid artery, on the right and left, respectively) (30).

In this study, the proportion of patients classified as high risk according to the Framingham score was higher in the NASH group, although the difference was not statistically significant. Assessment of cardiovascular risk by the Framingham score and investigation of the occurrence of coronary artery disease over 10 years were the goals of a population study that including 309 patients with NAFLD. Forty-one patients died and in 10 of them coronary artery disease was the cause of death. The authors also showed that the Framingham risk score accurately predicted cardiovascular risk in 10 years in that population (44). Considering that it is a simple tool and easy to use in outpatients, we suggest the assessment of the cardiovascular risk by Framingham score be added to the routine outpatient care of individuals with NAFLD.

In conclusion, no clinically significant association was found between carotid IMT values and NAFLD forms of presentation: NAS and NASH. IMT of the NAFLD patients was also similar to that of the control group. However, regarding the Framingham score, we observed a tendency to higher cardiovascular risk in the NASH group. Limitations concerning the differential diagnosis between NAS and NASH, a relatively small sample size and technical aspects of IMT measurement may have exerted significant influences on the results; therefore, they should be interpreted with some caution. Studies with larger samples in which liver biopsy is used to characterize NAFLD forms are needed to clarify the actual value of the measurement of carotid IMT using radiofrequency in differential diagnosis of the clinical NAFLD forms.

REFERENCES

1. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2010; 30:1341-50.
2. Caldwell SH, Argo CK, Al-Osaimi AMS Al-Osaimi CSH, Argo CK, Al-Osaimi AMS. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. In: Schiff ER, Maddrey WC, Sorrell MF, eds. *Schiff's diseases of the liver*. USA: Wiley-Blackwell, 2011: 868-906.
3. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 2006;44:865-73.
4. Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: S74-S80.
5. Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia* 2008; 51:1947-53.
6. Rafiq N, Bai C, Fang Y, et al. Longterm follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 234-8.

7. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-19.
8. Lin YC, Lo HM, Chen JD. Sonographic fatty liver, overweight and ischemic heart disease. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4838-42.
9. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is a novel predictor of cardiovascular disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1579-84.
10. Mirbagheri SA, Rashidi A, Abdi S, Saedi D, Abouzari M. Liver: an alarm for the heart? *Liver Int* 2007; 27: 891-4.
11. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *J Hepatol* 2010; 53: 713-8.
12. Stein JH, Fraizer MC, Aeschlimann SE, Nelson-Worel J, McBride PE, Douglas PS. Vascular Age: Integrating Carotid Intima-Media Thickness Measurements with Global Coronary Risk Assessment. *Clin Cardiol* 2004; 27: 388-92.
13. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15: 539-53.
14. National Cholesterol Education Program (NCPE) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-97.
15. Brea A, Mosquera D, Martin E, Arizti A, Cordero JL, Ros E. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with carotid atherosclerosis: a case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1045-50.

16. Manco M, Bedogni G, Monti L, Morino G, Natali G, Nobili V. Intima-media thickness and liver histology in obese children and adolescents with non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis* 2010; 209: 463-8.
17. Fracanzani AL, Burdick L, Raselli S, et al. Carotid Artery Intima-media Thickness in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Am J Med* 2008; 121: 72-8.
18. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Relations Between Carotid Artery Wall Thickness and Liver Histology in Subjects With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Diabetes Care* 2006; 29: 1325-30.
19. Caserta CA, Pendino GM, Amante A, et al. Cardiovascular Risk Factors, Nonalcoholic Fatty Liver Disease, and Carotid Artery Intima-Media Thickness in an Adolescent Population in Southern Italy. *Am J Epidemiol* 2010; 171: 1195-1202.
20. Bianchini E, Bazec E, Gemignani V, et al. Assessment of Carotid Stiffness and Intima-Media Thickness From Ultrasound Data. Comparison Between Two Methods. *J Ultrasound Med* 2010; 29: 1169-75.
21. Loria P, Adinolfi LE, Bellentani S, et al. The NAFLD Expert Committee of the Associazione Italiana per lo studio del Fegato (AISF). Practice guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: A decalogue from the Italian Association for the Study of the Liver (AISF) Expert Committee. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 272-82.
22. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120: 1640-5.

23. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AMBS, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of Coronary Heart Disease Using Risk Factor Categories. *Circulation* 1998; 97: 1837-47.
24. Pollock ML, Gaesser GA, Butcher JD, et al. ACSM Position Stand: The Recommended Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory and Muscular Fitness, and Flexibility in Healthy Adults. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 975-91.
25. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. The Homeostasis Model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 1997; 20: 1087-92.
26. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. AASLD Position Paper-Liver Biopsy. *Hepatology* 2009; 49: 1017-44.
27. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55: 2005-23.
28. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-21.
29. Sanyal AJ. American Gastroenterological Association. AGA Technical Review on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 1705-25.
30. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, et al for the ARIC Investigators. Carotid Artery Intimal-Medial Thickness Distribution in General Populations as evaluated by B-Mode Ultrasound. *Stroke* 1993; 24: 1297-304.
31. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. ASE consensus statement - Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography

Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 93-111.

32. Bild DE, Bluemke DA, Burke GL, et al. Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis: Objectives and Design. *Cerebrovasc Dis* 2007; 23: 75-80.

33. Gariépy J, Salomon J, Denarié N, et al. Sex and Topographic Differences in Associations Between Large-Artery Wall Thickness and Coronary Risk Profile in a French Working Cohort: The AXA Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 584-90.

34. Denarie N, Gariépy J, Chironi G, et al. Distribution of ultrasonographically-assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis* 2000; 148: 297-302.

35. Eleid MF, Lester SJ, Wiedenbeck TL, et al. Carotid Ultrasound Identifies High Risk Subclinical Atherosclerosis in Adults with Low Framingham Risk Scores. *J Am Soc Echocardiogr* 2010; 23: 802-8.

36. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim Carotid Intima-media Thickness Consensus (2004-2006). *Cerebrovasc Dis* 2007; 23: 75-80.

37. Taylor AJ, Kent SM, Flaherty PJ, Coyle LC, Markwood TT, Vernalis MN. Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol: A Randomized Trial Comparing the Effects of Atorvastatin and Pravastatin on Carotid Intima Medial Thickness. *Circulation* 2002; 106: 2055-60.

38. Wieckowska A, Feldstein AE. Diagnosis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Invasive versus Noninvasive. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 386-95.

39. Grandison GA, Angulo P. Can Nash Be Diagnosed, Graded, and Staged Noninvasively? *Clin Liver Dis* 2012; 16: 567-85.

40. Almeda-Valdés P, Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA. Metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2009; 8: S18-24.
41. Kar-Ho L, Ying-Keung F, Yuk-Ting C, Wing-Keung T, Ying M. Repeatability and reproducibility of ultrasonographic measurement of carotid intima thickness. *J Clin Ultrasound* 2012; 40: 79-84.
42. Ciccone MM, Scicchitano P, Zito A, Agati L, Gesualdo M, Mandolesi S, et al. Correlation between coronary artery disease severity, left ventricular mass index and carotid intima media thickness, assessed by radio-frequency. *Cardiovasc Ultrasound* 2011; 32: 1-8.
43. Dogan S, Plantinga Y, Dijk JM, Van der Graaf Y, Grobbee DE, Bots ML, SMART Study Group. Manual B-Mode Versus Automated Radio-Frequency Carotid Intima-Media Thickness Measurements. *J Am Soc Echocardiogr* 2009; 22: 1137-44.
44. Treeprasertsuk S, Leverage S, Adams LA, Lindor KD, St Sauver J, Angulo P. The Framingham risk score and heart disease in nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2012; 32: 945-50.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo avaliou-se a EMI das artérias carótidas na DHGNA, comparou-se as medidas àquelas do grupo controle e entre os pacientes com ENA e EHNA com o objetivo de investigar a possibilidade de associação entre gravidade da DHGNA e medida do complexo média-íntima. Até onde se tem conhecimento, este foi o primeiro estudo relacionado a DHGNA e medida da EMI das carótidas feito por sinal de RF.

A determinação da EMI por RF parece ser mais precisa, pois, a medida é realizada em tempo real e durante o procedimento é necessário alinhamento correto da parede da carótida, bem como, respeito aos limites determinados para o desvio padrão e número de medições, motivo pelo qual é considerada uma medida mais confiável.

O fato de a aterosclerose progredir mais rapidamente no bulbo e na carótida interna poderia explicar, ao menos parcialmente, a diferença encontrada na medida da EMI da carótida interna direita e da medida combinada-2 entre os grupos, uma vez que nessa região a espessura do complexo médio-intimal se torna maior, mais precocemente. No entanto, contrariamente ao esperado, observou-se que essa medida foi superior no grupo ENA; além disso, foi observada apenas em um lado. Assim, é provável que a diferença observada se deva ao tamanho relativamente pequeno da amostra ou ao acaso. Outra possibilidade para esse achado seria o fato de a medida da EMI na carótida comum ter sido realizada 1cm proximalmente à origem do bulbo, onde há menor probabilidade de ser encontrada placa ateromatosa.

A falta de diferença entre as medidas da EMI das carótidas nos grupos controle e com DHGNA pode ter sido devido ao fato de que os controles, apesar de assintomáticos, não estavam totalmente isentos de fatores de risco para DCV.

Quando se classificou a EMI em quartis, observou-se percentil inferior a 75 na maioria dos pacientes de ambos os grupos com DHGNA e nos controles. O ponto de corte da EMI das carótidas foi definido em estudos nos quais não foi empregada a técnica por radiofrequência. Tal fato pode ter exercido influência no resultado deste estudo. E, talvez, o ponto de corte da medida da EMI das carótidas por radiofrequência seja diferente do percentil 75 empregado.

A semelhança encontrada no perfil clínico-metabólico dos pacientes dos dois grupos com DHGNA pode ter sido a principal responsável pela ausência de diferença da EMI entre eles. Essa semelhança certamente resulta, em parte, de classificação errônea de alguns casos, uma vez que os critérios para se diferenciar ENA de EHNA apresentam limitações, mesmo quando baseados exclusivamente em biópsia hepática.

Infelizmente, o curso natural da DHGNA ainda não está bem definido, justificado em parte, pela dificuldade em se estabelecer a carga de gravidade da doença e de identificar o momento exato da evolução da ENA para EHNA.

A inclusão no estudo apenas de pacientes submetidos a biópsia hepática certamente minimizaria a possibilidade da classificação errônea dos casos; mas, por outro lado, poderia levar à inclusão predominante de casos mais graves, uma vez que estes preenchem mais frequentemente os critérios clássicos de indicação de biópsia.

Neste estudo, a proporção de pacientes classificados como de alto risco segundo o escore de Framingham foi maior no grupo EHNA, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Vários estudos demonstraram que o escore de risco de Framingham prediz com acurácia o risco cardiovascular em 10 anos. Por se tratar de método simples, rápido e de utilização ambulatorial, sugere-se que a avaliação do risco cardiovascular pelo escore de Framingham seja acrescentada à rotina de atendimento ambulatorial de pacientes com DHGNA.

Limitações relativas ao diagnóstico diferencial entre ENA e EHNA, tamanho amostral relativamente pequeno e aspectos técnicos da medida da EMI podem ter exercido influência significativa sobre os resultados encontrados, motivo pelo qual eles devem ser interpretados com certa cautela. Estudos com amostras maiores e nos quais, a biópsia hepática seja utilizada para a caracterização das formas da DHGNA são necessários para que se possa chegar a uma conclusão sobre o real valor da medida da EMI das carótidas por RF no diagnóstico diferencial das formas clínicas da DHGNA.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE A ESPESSURA MÉDIO-INTIMAL DAS ARTÉRIAS CARÓTIDAS E AS APRESENTAÇÕES DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA: ESTEATOSE SIMPLES E ESTEATOHEPATITE

O (A) Sr.(a) está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a), de um estudo científico com o objetivo de avaliar a ESPESSURA MÉDIO INTIMAL DAS ARTÉRIAS CARÓTIDAS E AS APRESENTAÇÕES DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA: ESTEATOSE SIMPLES E ESTEATOHEPATITE em nosso meio.

A doença hepática gordurosa não-alcoólica apresenta associação com várias alterações no organismo que são causas de doenças cardiovasculares. Para verificar melhor essas alterações e avaliar a possibilidade do surgimento de doenças cardiovasculares, o senhor(a) será submetido a um exame das artérias carótidas por meio de ultrassonografia, para realização das medidas de interesse.

Parece haver correlação entre a espessura da artéria carótida e a gravidade da doença hepática gordurosa não-alcoólica. O objetivo deste estudo é investigar esta possível associação.

Os pesquisadores manterão em sigilo a identidade dos participantes, inclusive em qualquer publicação resultante do estudo, garantindo-se total anonimato e confidencialidade.

O (A) Sr.(a) poderá recusar-se a participar da pesquisa, ou mesmo afastar-se dela a qualquer momento, sem que isso traga qualquer prejuízo a sua assistência no Hospital das Clínicas. Antes de assinar esse termo, o (a) Sr.(a) deve informar-se plenamente a respeito do estudo, não tendo medo ou vergonha de fazer perguntas sobre qualquer assunto que queira esclarecer. É importante ter conhecimento das seguintes informações sobre o estudo:

Objetivo do estudo: Avaliar a espessura médio-intimal (EMI) das artérias carótidas em pacientes com síndrome metabólica (SM) e doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) e comparar os valores dessas medidas entre duas diferentes apresentações da DHGNA: esteatose, forma simples e a esteatohepatite não-alcoólica (EHNA).

Procedimentos a serem realizados: se você for participar do nosso estudo, um médico fará seu exame físico e preencherá um questionário. Este é o mesmo tipo de exame que você sempre faz nas consultas do ambulatório do Hospital das Clínicas. O Sr(a). fará também um exame de

ultrassonografia das artérias carótidas no setor de Ecografia vascular do Hospital das Clínicas – UFMG, situado a Av. Alfredo Balena – Santa Efigênia – Belo Horizonte – MG.

Riscos potenciais: não há riscos envolvidos em participar deste estudo.

Benefícios: não há benefícios em termos individuais imediatos. No entanto, esperamos contribuir para o conhecimento dessa entidade, o que futuramente poderá trazer benefícios para outros pacientes. Os resultados dos exames serão disponibilizados aos médicos assistentes assim como aos pacientes e serão utilizados apenas para este estudo. Caso novos estudos forem realizados, um novo termo de consentimento será solicitado.

O QUE DEVO FAZER SE TIVER PROBLEMAS OU PERGUNTAS?

Se você tiver qualquer pergunta, pode fazê-la na consulta a seu médico ou telefonar para nós. Você pode telefonar para Dra. Ana Cristina Lopes Albricker, no número (31)9983-2367. Caso tenha alguma dúvida sobre os seus direitos como paciente da pesquisa, você deverá ligar para o Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP/UFMG) no número (31)3409-4592, situado à Av. Antônio Carlos, 6627, Campus da Pampulha, Unidade Administrativa II - segundo andar, sala 2005. CEP: 31270-901, Belo Horizonte-MG; e-mail: coep@prpq.ufmg.br.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu li este formulário de consentimento (ou alguém o explicou para mim), todas as minhas perguntas foram respondidas e concordo em participar deste estudo. Estou ciente de que eu posso sair a qualquer momento, sem perder o direito de receber cuidados médicos.

Nome do paciente: _____

Assinatura do paciente: _____

Nome do investigador que prestou as informações: _____

Assinatura e CRM do investigador que prestou as informações:

Data: ____/____/____

APÊNDICE B – Ficha de coleta de dados na 1º consulta

**PROTOCOLO DE ATENDIMENTO PRIMEIRA CONSULTA**

Nome:
Registro:

Data:

Características Demográficas e Socioeconômicas

Cor: (1) B 2 (M) 3(N)

Sexo: (1) M (2) F

Naturalidade:

Endereço:

Telefone:

Profissão:

Atividades profissionais:

Escolaridade:

Saber ler e escrever: (1) Sim (2) Não

Qual é o curso mais elevado que frequentou, no qual conclui pelo menos uma série?

1. ALFABETIZAÇÃO DE ADULTOS
2. ANTIGO PRIMÁRIO
3. ANTIGO GINÁSIO
4. ANTIGO CLÁSSICO, CIENTÍFICO, ETC
5. ENSINO FUNDAMENTAL OU 1º GRAU
6. ENSINO MÉDIO OU 2º GRAU
7. SUPERIOR – GRADUAÇÃO
8. MESTRADO OU DOUTORADO
9. NENHUM

Qual a última série concluída com aprovação?

- () primeira () segunda
 () terceira () quarta
 () quinta () sexta
 () sétima () oitava
 () curso não seriado () nenhuma

Renda Familiar total: salários mínimos

Número de pessoas que coabitam na casa:

Estado civil: (1) solteiro (2) casado (3) divorciado (4) viúvo (5) outros

Especificar: _____

Dados Clínicos

Diagnóstico: (1) esteatose (2) NASH sem fibrose (3) NASH com fibrose (4) Cirrose

Método Diagnóstico:

- (1) US (2) Biópsia
 (4) transaminases aumentadas

- (3) TC
 (5) Gama-GT aumentada

Data do diagnóstico: Local: (1) HC (2) outro

Classificação da DHGNA à Ultrassonografia:

(0) ausente (1) leve (2) moderado (3) grave (4) hepatopatia crônica fibrosante

Número do US : Data:

Presença de hepatomegalia ao US (1) sim (2) não

Número da biópsia: Data:

Anamnese

Queixa principal:

História da moléstia atual:

Apresenta alteração no TGI:

(1) Digestão lenta

(1) Constipação intestinal (ROMA 3)

(1) Náusea

(1) Pirose

(1) Diarréia

(1) Dor abdominal: Especificar caráter da dor: _____ Freqüência da dor: _____

Necessário uso de analgésico: (1) Sim (2) não

Drogas ilícitas: (1) sim (2) não (8) não sabe (9) não se aplica

Quais:

Tempo de uso:

Exposição à petroquímicos: (1) sim (2) não (8) não sabe (9) não se aplica

Duração:

Tempo de afastamento:

Apresenta algum componente da síndrome metabólica:

(1) CC (H \geq 90 e M \geq 80)

(1) Resistência a Insulina (HOMA > 3)

(1) Diabetes (>126 mg/dl)

(1) Hipertrigliceridemia (>150 mg/dl)

(1) Hiperglicemia (\geq 100 mg/dl)

(1) Hipertensão (\geq 130/ \geq 85)

(1) HDL (H = <40mg/dl e M > 50 mg/dl)

(1) Hiperuricemia

Doenças Associadas:

(1) AVE/AIT (2) DAOP (3) ICO (4) Hipotireoidismo (5) Alteração do ciclo menstrual

Etilismo (1) sim (2) não

Duração:

Tipo:

Quantidade: > 10 g/dia mulheres

< 10 g/dia mulheres

> 20 g/dia homens

< 20 g/dia homens

Se bebeu, por quanto tempo?

Quantidade

Parou há quanto tempo?

Tabagismo: S () N ()

Quantidade:

História Prévia

Cirurgia: (1) sim (2) não Tipo: _____

Transfusão de sangue (1) sim (2) não

Alteração de peso: (1) infância (2) adolescência (3) vida adulta
 Já fez tratamento para obesidade: (1) sim (2) não
 Se sim em que período: (1) infância (2) adolescência (3) vida adulta

História Familiar:

História de doenças na família (parentes de primeiro grau):

(1) Obesidade	(1) Hipercolesterolemia
(1) Hipertensão	(1) Hepatocarcinoma
(1) Cirrose	(1) DCV (AVE, IAM, Angina)
(1) Diabetes	(1) DHGNA
(8) Não sabe	(1) Hipertrigliceridemia
(9) Não se aplica	

História Alimentar:

Apresenta alguma intolerância alimentar? (1) sim (2) não Qual?
 Apresenta desordem alimentar? (1) sim (2) não Qual?
 Apresenta alguma alergia alimentar? (1) sim (2) não (8) não sabe (9) não se aplica Qual?

Atividade Física: () sim () não
 Tipo: () aeróbica () anaeróbica Tempo: Frequência:
 Atividades físicas do cotidiano:

Exame Físico:

Sinais periféricos de hepatopatia crônica: () sim () não

Quais:

Cabelos: () com queda () quebradiços () ressecados () despigmentados

Mucosa: () hipocorada () hipohidratada

Cutâneo: () descamativa () petéquias () hipohidratada

AR:

ACV:

Pressão Arterial:

Ausculta cardíaca:

Pulsos periféricos: MID _____ MIE _____ Sopro carotídeo: (1) sim (2) não

Abdome:

Antropometria:

Peso Habitual: Peso atual: Altura: IMC: CC:

Exames Laboratoriais Iniciais - Data:

Insulina:

Glicemia:

HOMA: (insulina sérica ($\mu\text{U/ml}$) \times glicose de jejum (mmol/l) / 22.5)

ASAT: valor de referência:

ALAT: valor de referência:

GGT: valor de referência:

FA: valor de referência: BT BD BI

CT: HDL: VLDL: LDL: TG:

Ac. Úrico TSH:

HBsAg	Anti HCV	Anti HBC	
Anti núcleo	AML	A. Mitoc	FAN
Albumina			
Fibrinogênio:	valor de referência:		
Homocisteína:	valor de referência:		
PCR US:	valor de referência:		
Lipoproteína A:	valor de referência:		
RNI	Plaqueta:		
Cobre:	Ferro sérico:	Transferrina:	Ferritina:

HD:

Conduta:

APÊNDICE C - Ficha de coleta de dados no retorno



PROTOCOLO DE ATENDIMENTO RETORNO

Nome:

Registro:

Data:

Evolução (Colocar data e texto):

Sintomas:

Apresenta alteração no TGI:

(1) Digestão lenta

(1) Constipação intestinal (ROMA 3)

(1) Náusea

(1) Pirose

(1) Diarréia

(1) Azia

(1) Vômito

(1) Flatulência

(1) Alteração do paladar

(1) Dor abdominal: Especificar caráter da dor: _____ Freqüência da dor: _____ Necessário uso de analgésico: (1) Sim (2) não

Estilo De Vida:

Etilismo (1) sim (2) não

Tabagismo: S () N ()

Quantidade:

Atividade Física: () sim () não

Tipo: () aeróbica () anaeróbica

Antropometria:

Peso atual:

Altura:

IMC:

CC:

Exame Físico:

Sinais periféricos de hepatopatia crônica: () sim () não

Quais:

Cabelos: () com queda () quebradiços () ressecados () despigmentados

Mucosa: () hipocorada () hipohidratada

Cutâneo: () descamativa () petéquias () hipohidratada

AR:

ACV:

Pressão Arterial:

Pulsos periféricos: MID ____ MIE ____

Ausculta cardíaca:

Sopro carotídeo: (1) sim (2) não

Abdome:

Exames Imagem:

Classificação da DHGNA à Ultrassonografia:

(0) ausente (1) leve (2) moderado (3) grave (4) hepatopatia crônica fibrosante

Número do US :

Data:

Número da biópsia:

Data:

(1) esteatose simples (2) NASH sem fibrose (3) NASH com fibrose (4) Cirrose

Exames Laboratoriais - Data:Insulina: Glicemia: HOMA: (insulina sérica ($\mu\text{U/ml}$) \times glicose de jejum (mmol/l) / 22.5)

ASAT: valor de referência:

ALAT: valor de referência:

GGT: valor de referência:

FA: valor de referência: BT BD BI

CT: HDL: VLDL: LDL: TG:

Ac. Úrico TSH:

Albumina

RNI Plaqueta:

Ferro sérico: Transferrina: Ferritina:

HD:**Conduta:**

APÊNDICE D – Protocolo de espessura médio-intimal das artérias carótidas

MEDIDAS DA ESPESSURA MÉDIO INTIMAL DAS CARÓTIDAS EM PACIENTES COM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

IDENTIFICAÇÃO

Nome:

Prontuário:

Medidas automáticas das carótidas:

1 – anterior

2 – esternocleidomastóideo

3 - posterior

LADO ESQUERDO

Carótida comum	Valor máximo	Valor médio	Valor mínimo	Desvio padrão
1				
2				
3				
Bifurcação	Valor máximo	Valor médio	Valor mínimo	Desvio padrão
1				
2				
3				
Carótida interna	Valor máximo	Valor médio	Valor mínimo	Desvio padrão
1				
2				
3				

LADO DIREITO

Carótida comum	Valor máximo	Valor médio	Valor mínimo	Desvio padrão
1				
2				
3				
Bifurcação	Valor máximo	Valor médio	Valor mínimo	Desvio padrão
1				
2				
3				
Carótida interna	Valor máximo	Valor médio	Valor mínimo	Desvio padrão
1				
2				
3				

APÊNDICE E – Protocolo de ultrassonografia hepática

PROTOCOLO PARA AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA ESTEATOSE HEPÁTICA**Identificação:**

1) Medidas dos lobos hepáticos

Lobo direito: _____ cm

Lobo esquerdo: _____ cm

2) Ecogenicidade do parênquima (comparada com a cortical renal)

 normal levemente aumentada moderadamente aumentada acentuadamente aumentada

3) Textura do parênquima

 homogêneo heterogêneo

4) Contornos

 regulares irregulares

5) Vasos (veias hepáticas e ramos portais)

 bem visualizados parcialmente visualizados

não visualizados

6) Diafragma

bem visualizado

parcialmente visualizado

não visualizado

7) Doppler das veias hepáticas (padrão de fluxo)

trifásico

bifásico

monofásico

8) Outros achados: _____

ANEXOS

ANEXO 1 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – UFMG



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

Parecer nº. ETIC 0198.0.203.00-10

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

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 16 de junho de 2010, o projeto de pesquisa intitulado "**Relação entre espessura médio-intimal das artérias carótidas e as apresentações da doença hepática gordurosa não-alcoólica: esteatose simples e esteatohepatite**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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


Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG