

Dutra, Jeniffer Danielle Machado.
D978r Relação entre níveis séricos de vitamina D e doença hepática gordurosa não alcoólica [manuscrito]. / Jeniffer Danielle Machado Dutra. -- Belo Horizonte: 2017.
92f.: il.
Orientador: Claudia Alves Couto.
Área de concentração: Saúde do Adulto.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Hepatopatia Gordurosa não Alcoólica. 2. Deficiência de Vitamina D. 3. Vitamina D. 4. Estudos Transversais. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Couto, Claudia Alves. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WI 700

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

JENIFFER DANIELLE MACHADO DUTRA

**RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D E DOENÇA
HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**

Belo Horizonte - MG
2017

JENIFFER DANIELLE MACHADO DUTRA

**RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D E DOENÇA
HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**

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

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Alves Couto

Belo Horizonte - MG
2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Prof. Jaime Arturo Ramírez

Vice-Reitora

Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Pró-Reitora de Pós-Graduação

Profa. Denise Maria Trombert de Oliveira

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Ado Jório

Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Humberto José Alves

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Edson Samesima Tatsuo

Chefe do Departamento de Clínica Médica

Profa. Valeria Maria Augusto

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

Profa. Suely Meireles Rezende

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

Profa. Teresa Cristina A. Ferrari

Profa. Suely Meireles Rezende

Profa. Gilda Aparecida Ferreira

Prof. Paulo Caramelli

Profa. Rosângela Teixeira

Prof. Marcus Vinícius M. de Andrade

Profa. Mônica Maria Teixeira

Dedico este trabalho à Deus por estar sempre presente em minha vida, permitindo que tudo pudesse ser realizado e à minha maravilhosa família por estar ao meu lado e por me apoiar em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

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

À minha orientadora, Profa. Cláudia, pelos ensinamentos e compartilhamento de experiência profissional na área de hepatologia, pela paciência em esclarecer minhas dúvidas durante esses anos, desde o atendimento aos pacientes até o desenvolvimento e conclusão do mestrado. Por ter acreditado na minha capacidade, ao ser minha orientadora. Muito obrigada!

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

Ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto, pelas orientações, principalmente a colaboradora Andréia de Souza, sempre disposta em ajudar, esclarecendo as nossas dúvidas.

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

Às secretárias do ambulatório do Instituto Alfa de Gastroenterologia, pelo auxílio em nossas demandas durante todo esse período.

Aos pacientes que acreditaram em nossa capacidade e, que sem os mesmos esse trabalho não seria realizado,

À nutricionista Silvia Ferolla, pela ajuda, em todos os momentos, pelo apoio, pelo carinho e cuidado. Parabéns pela competência. Muito Obrigada!

À Nutricionista Geyza Armiliato por toda ajuda, esclarecimento de dúvidas, principalmente nas primeiras análises estatísticas. Sua ajuda foi de extrema importância.

Ao médico Quelson, pelos atendimentos e discussão de casos, pelos ensinamentos, pela ajuda na busca de dados.

Às acadêmicas: Carolina Martinelli Mascarenhas de Lucena Carvalho e Camila Costa Mazoni Mendes pela ajuda na coleta dos dados. Obrigada.

Ao Hospital Madre Teresa por compreender os horários das aulas, as horas de ausência no hospital e por permitir que essa etapa fosse concluída.

À minha família: pelo apoio, carinho, atenção e estímulo de sempre. Destaco meu agradecimento à minha mãe, que acompanhou de perto toda correria, que sempre está do meu lado me dando o maior apoio que poderia ter. A senhora foi peça chave neste percurso. Muito obrigada mesmo!

“Tudo posso naquele que me fortalece”

(Filipenses 4:13)

RESUMO

Introdução: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é a causa mais comum de doença hepática crônica, principalmente em países ocidentais. A incidência e gravidade da DHGNA têm sido associadas a hipovitaminose D. O objetivo do estudo foi investigar a associação de níveis séricos de vitamina D com a gravidade da DHGNA e presença de comorbidades. **Métodos:** Em um estudo transversal, foram incluídos 139 indivíduos com DHGNA e com dosagem de 25-hidroxivitamina D. Critérios de inclusão: diagnóstico de DHGNA por ultrassonografia abdominal e/ou biópsia hepática. Pacientes em suplementação de vitamina D foram excluídos. Concentrações séricas de vitamina D <20 ng/mL foram classificadas como deficiência e entre 20 e 29 ng/mL como insuficiência. Para avaliar a gravidade da DHGNA foi utilizada a classificação histológica segundo NASH Clinical Research Network System. Para fibrose, utilizou-se a classificação de Kleiner e *col.* e parâmetros clínicos para estabelecer NAFLD e BARD scores. **Resultados:** A idade média dos pacientes foi de 56 anos (entre 18-82), sendo a maioria do sexo feminino (83%), 72% eram hipertensos, 88% dislipidêmicos, 46% diabéticos, 98% apresentavam obesidade central e 82% tinham síndrome metabólica. Para realização de biópsia hepática, 59 pacientes foram elegíveis. A prevalência de hipovitaminose D foi de 78% na população estudada. A maioria dos pacientes (85%) foram classificados como fibrose ausente ou indeterminado pelo NAFLD score e 24% classificados com baixo risco de desenvolver doença avançada pelo BARD score. No ponto de corte de vitamina D de 20 ng/mL não houve diferença significativa nas variáveis estudadas. No ponto de corte 30 ng/mL, observou-se relação entre baixos níveis de vitamina e ausência de diabetes ($p=0.011$), houve também associação com BARD score (2-4) ($p=0.016$). **Conclusão:** A maioria dos pacientes com DHGNA tinham hipovitaminose D e níveis baixos da vitamina D estavam relacionados a ausência de diabetes e gravidade da doença pelo BARD score.

Palavras-chave: doença hepática gordurosa não alcoólica, deficiência de vitamina D, 25(OH)D.

ABSTRACT

Introduction: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common cause of chronic liver disease, especially in Western countries. The incidence and severity of NAFLD have been associated with hypovitaminosis D. We aimed to investigate the prevalence of hypovitaminosis D and its association with the severity of the disease and the presence of comorbidities. **Methods:** A cross-sectional study included 139 adults with NAFLD and dosage of 25-hydroxyvitamin D. Inclusion criteria: diagnosis of NAFLD by abdominal ultrasound and/or liver biopsy. Patients with previous or current use of vitamin D supplement were not included. Levels of vitamin D <20 ng/mL were classified as deficiency and between 20-29 ng/mL as insufficiency. Disease's severity was evaluated by NAFLD and BARD scores and histological features according to the NASH Clinical Research Network System. **Results:** The mean age of the population was 56 ys (range 18-82 ys), most patients were female (83%), 72% had hypertension, 88% were dyslipidemic, 46% had diabetes, 98% had central obesity and 82% had metabolic syndrome. The prevalence of hypovitaminosis D was 78% in the studied population. Most patients (85%) were classified as absent or indeterminate fibrosis by NAFLD score and 24% classified as having low risk of developing advanced disease by BARD score. At the cut-off point for vitamin D of 20 ng/mL there was no significant difference in variables studied. At the cut-off point for vitamin D of 30 ng/mL, low levels of vitamin D were associated to the absence of diabetes ($p=0.011$) and with BARD score (2-4) ($p = 0.016$). **Conclusion:** Most patients with NAFLD had hypovitaminosis D and low vitamin D levels were related to the absence of diabetes and disease severity by the BARD score.

Key words: nonalcoholic fatty liver disease, vitamin D deficiency, 25(OH)D.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Doenças associadas à deficiência de vitamina D.....	27
Quadro 2 – Estudos sobre níveis de vitamina D e DHGNA	33
Quadro 3 – Critério NAS para classificação de DHGNA	51
Quadro 4 – Classificação de IMC	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – História natural da DHGNA.....	18
Figura 2 – Síntese e metabolismo da Vitamina D.....	26
Figura 3 – Efeito metabólico, anti-inflamatório e anti-fibrótico na vitamina D..	31

LISTA DE TABELAS

Table 1: Demographic and nutritional characteristics of the individuals with NAFLD and serum level of vitamin D.....	63
Table 2 - Association between serum levels of vitamin D and clinical characteristics.....	64
Table 3 - Association between serum levels of vitamin D and biochemical characteristics.....	64
Table 4 - Association between serum levels of vitamin D and severity of NAFLD by histology.....	65
Table 5 - Association between serum levels of vitamin D and severity of NAFLD by non-invasive methods and clinical characteristics score.....	66
Table 6 - Variables that significantly influence vitamin D levels in both cut-off points.....	68

LISTA DE GRÁFICOS

Graphic 1 - Risk and protective factors for the occurrence of altered levels of vitamin D - 20 ng/mL.....	66
Graphic 2 - Risk and protective factors for occurrence of altered levels of vitamin D - 30 ng/mL.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS

1,25(OH)₂D – 1- α ,25-diidroxi-vitamina D

25 (OH) D – 25-hidroxivitamina D

AGA - American Gastroenterological Association

ALT - Alanina aminotransferase

Anti-HBc – Anticorpo contra o antígeno de superfície da hepatite B

Anti-HCV – Anticorpo contra o vírus da hepatite C

AST – Aspartato aminotransferase

CRN – Clinical Research Network

CYP24A1 – 24-hidroxilase

CYP2R1 – 25-hidroxilase

DBP – Vitamin D binding protein

DHGNA – Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica

DM – Diabetes Mellitus

EHNA – Esteato-hepatite Não-Alcoólica

FA – Fosfatase alcalina

FAN – Anticorpo anti-nuclear

GGT - Gama glutamil transferase

GJA – Glicemia de jejum alterada

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

HBsAg – Antígeno de superfície do vírus da hepatite B

HOMA-IR – Homeostatic model assessment-estimated insulin resistance

HPLC – High performance liquid chromatography

IDF – International Diabetes Federation

IL-6 – Interleucina 6

IMC – Índice de Massa Corporal

LAP – Lipid accumulation product

LC-MS /MS – Liquid chromatography-tandem mass spectrophotometry

NAFLD - Non-alcoholic fatty liver disease

NAS - NAFLD activity score

NASH – Nonalcoholic steatohepatitis

NFS - NAFLD fibrosis score

NF-Kb – Fator nuclear kappa β
PTH – Hormônio da paratireoide
RC – Razão de chances
RI – Resistência à Insulina
SM – Síndrome Metabólica
TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa
TSH – Hormônio estimulante da tireoide
TTGO – Teste de tolerância à glicose oral
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais
US – Ultrassonografia
VDR – Receptor de vitamina D
VDRE – Vitamin D response element
VLDL – Very low-density lipoproteins

SUMÁRIO

1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	16
1.1 – Introdução.....	16
1.2 – Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica.....	17
1.2.1 – Definição.....	17
1.2.2 – Epidemiologia.....	18
1.2.3 – Etiopatogenia.....	20
1.2.4 – Diagnóstico.....	22
1.2.5 – Tratamento.....	24
1.3 – Vitamina D e Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica.....	25
1.3.1 – Definição e Metabolismo.....	25
1.3.2 – Funções da vitamina D.....	26
1.3.3 – Epidemiologia e diagnóstico da hipovitaminose D.....	28
1.3.4 – Vitamina D na DHGNA.....	30
1.4 – Referências Bibliográficas.....	37
2 – OBJETIVOS.....	45
2.1 – Objetivo primário.....	45
2.2 – Objetivos secundários.....	45
3 – MÉTODOS.....	46
3.1 – Delineamento do estudo.....	46
3.2 – Pacientes.....	46
3.3 – Critérios de inclusão e exclusão.....	46
3.4 – Coleta de dados.....	47
3.4.1 – Avaliação clínico-laboratorial.....	47
3.4.2 – Análise de vitamina D e marcadores metabólicos.....	48
3.4.3 – Avaliação histológica.....	50
3.4.4 – NAFLD score.....	51
3.4.5 – BARD score.....	52
3.4.6 – Avaliação do estado nutricional.....	53
3.5 – Análise estatística.....	54
4 – ARTIGO.....	55
5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	78

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	79
APÊNDICE B – Protocolo de atendimento inicial.....	82

ANEXOS

ANEXO 1 – Parecer Consubstanciado do CEP.....	92
---	----

1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1 – Introdução

A definição de doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) requer a evidência de esteatose hepática, por exame de imagem ou por histologia, e ausência de outras causas como consumo excessivo de álcool, uso de medicações esteatogênicas ou problemas hereditários. Na maioria dos pacientes, a DHGNA está associada a outros fatores metabólicos como obesidade, resistência à insulina (RI), diabetes mellitus (DM) e dislipidemia. A DHGNA abrange a esteatose hepática e a esteato-hepatite não-alcoólica (EHNA) que pode evoluir até a cirrose hepática e suas complicações^(1,2).

A DHGNA é a causa mais comum de doença hepática crônica, principalmente em países ocidentais. Sua incidência mundial continua a crescer acompanhando a epidemia da obesidade^(3,4). A ocorrência e gravidade da DHGNA têm sido associadas a diversos fatores e, nos últimos anos, a associação entre níveis séricos de vitamina D e DHGNA tem sido estudada⁽⁵⁾.

A prevalência da hipovitaminose D na população mundial tornou-se uma preocupação devido ao papel da vitamina D em importantes processos fisiológicos incluindo: imunomodulação, ação anti-inflamatória e anti-fibrótica, metabolismo do cálcio e contração muscular, homeostase da glicose, pressão arterial e perfil lipídico^(6,7). Nesse contexto, a DHGNA tem sido associada à hipovitaminose D. Um dos mecanismos possíveis para explicar esta associação é o aumento da RI, reconhecidamente importante para a fisiopatologia da EHNA. Essa associação tem como uma possível explicação a expressão concomitante de 1-alfa-hidroxilase e o receptor de vitamina D (VDR) em células betapancreáticas, existindo uma relação entre níveis baixos de vitamina D e função prejudicada das células betapancreáticas^(5,7).

Embora existam alguns estudos publicados sugerindo a associação entre DHGNA e hipovitaminose D, outros estudos, incluindo um estudo epidemiológico, falam contra a associação. Ademais, a hipovitaminose D tornou-se também uma endemia nos dias atuais mesmo em países tropicais, o que tem levado ao questionamento sobre quais níveis séricos de vitamina seriam anormais e associados a condições patológicas. Neste contexto, o presente estudo objetiva avaliar os níveis séricos da vitamina D e relacioná-los aos parâmetros clínicos laboratoriais de gravidade da DHGNA e a presença de comorbidades podendo, eventualmente, contribuir para o melhor conhecimento fisiopatológico da DHGNA.

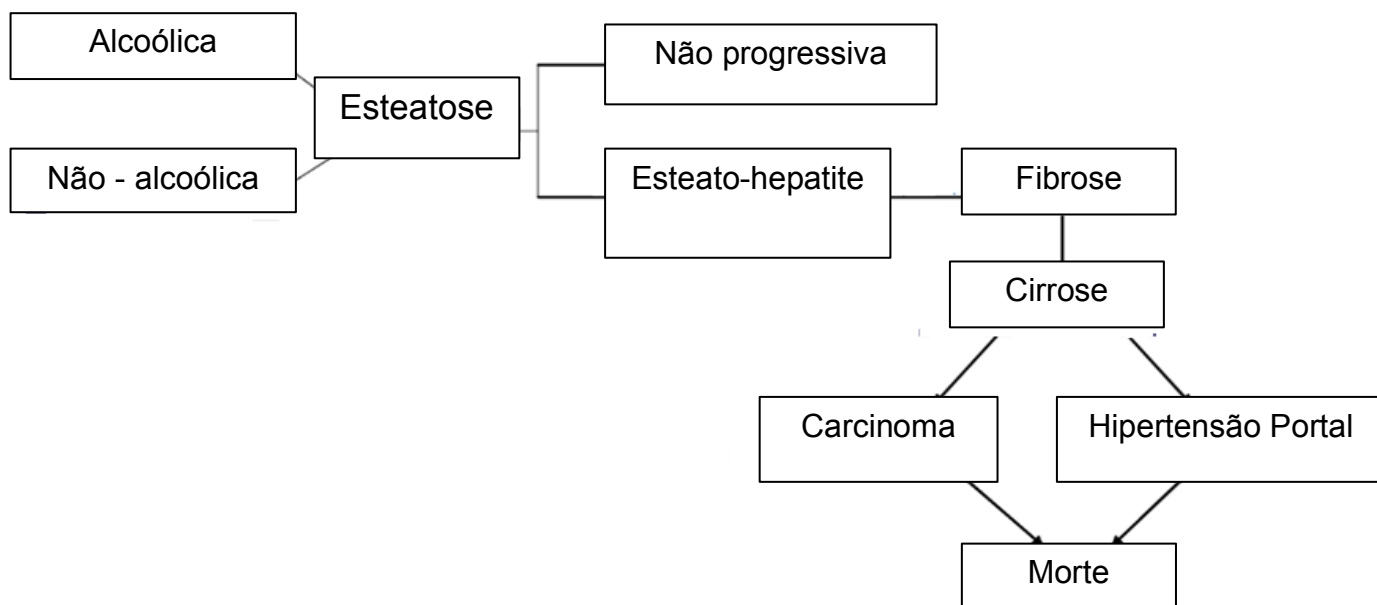
1.2 – Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica

1.2.1 – Definição

Em 1980, o termo *esteato-hepatite não-alcoólica* foi criado para descrever uma nova síndrome em pacientes, geralmente do sexo feminino e obesas (na maioria das vezes diabéticas), com biópsia compatível a hepatite alcoólica, na ausência de uso de álcool⁽⁸⁾. Atualmente, a DHGNA é definida pela presença de esteatose macrovesicular igual ou superior a 5% nos hepatócitos em indivíduos que não consomem ou consomem pouco álcool (abaixo de 20 gramas/dia para mulher e 30 gramas/dia para homem) e que não possuem outros fatores causais para o depósito de gordura hepática como medicamentos esteatogênicos ou desordens hereditárias⁽¹⁾, estando a DHGNA relacionada à obesidade, DM tipo 2 e síndrome metabólica (SM)⁽⁹⁾. É dividida em dois principais subtipos: esteatose hepática não-alcoólica (esteatose simples) forma não progressiva da DHGNA, que raramente leva ao desenvolvimento da cirrose, e a EHNA, forma progressiva da DHGNA, que ocasiona a cirrose, carcinoma hepatocelular e está relacionada a mortalidade hepática⁽⁴⁾ (Figura 1).

A EHNA é caracterizada pela presença de esteatose, balonização, degeneração e inflamação lobular, com ou sem fibrose, na histologia hepática^(10,11).

Figura 1 – História natural da DHGNA



Fonte: Adaptado de: *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2007. 3(6): p. 1153-1163.

1.2.2 – Epidemiologia

A DHGNA era praticamente desconhecida antes da década de 80, entretanto, atualmente, é reconhecida como a doença hepática crônica mais comum nos Estados Unidos e em diversas partes do mundo⁽¹²⁾. Segundo dados da pesquisa nacional sobre saúde e nutrição dos Estados Unidos, a proporção de DHGNA entre as doenças hepáticas aumentou de 47% para 75% entre 1988 e 2008⁽¹³⁾. A razão mais provável para esse aumento deve-se ao aumento da prevalência de fatores de riscos metabólicos, assim como ao envelhecimento da população. Ao longo do mesmo período (1988-2008), a prevalência das cinco condições para SM aumentou substancialmente: obesidade (21% para 33%), obesidade visceral (35% para 51%), DM tipo 2 (5,6% para 9,1%), RI

(23% para 35%) e hipertensão arterial sistêmica (HAS) (22 para 34%)⁽¹⁴⁾. Em pacientes com esteatose, a prevalência de obesidade e DM tipo 2 varia de 30% a 100% e de 10% a 75% respectivamente⁽⁸⁾.

A prevalência de DHGNA varia amplamente dependendo da população estudada e dos métodos diagnósticos utilizados^(1,13). Estima-se que 20% a 30% dos adultos em países desenvolvidos apresentam DHGNA⁽¹⁵⁾. Um estudo realizado no Brasil, que incluiu 437 pacientes com DHGNA avaliados por biópsia hepática, evidenciou a presença de esteatose simples em 42% dos pacientes e presença de EHNA em 58%, sendo que 27% desses também apresentavam fibrose. A cirrose foi observada em 15,4% e o carcinoma hepatocelular em 0,7% dos pacientes⁽¹⁶⁾. Considerando dados globais, a prevalência presumida de DHGNA está entre 6% a 33%, com média de 20%, a prevalência estimada de EHNA é notavelmente mais baixa, estando entre 3% a 5%⁽³⁾.

Recentemente, há um aumento de DHGNA especialmente em adolescentes e idosos. Um estudo de coorte Australiano mostrou presença de 12,8% de DHGNA em adolescentes, sendo maior em meninas do que em meninos (16,3% versus 10,1%). Observou-se, neste estudo, elevação da incidência de DHGNA relacionada ao aumento do índice de massa corporal (IMC)⁽¹⁷⁾. Em outro estudo, realizado em Roterdã, observou-se incidência de 35% de DHGNA em pacientes idosos (média de idade de 76 anos)⁽¹⁸⁾.

Em uma coorte de base comunitária, indivíduos com DHGNA apresentaram taxa de mortalidade maior quando comparados à população em geral. Neste estudo, a doença hepática foi a terceira causa mais comum de morte em indivíduos com DHGNA enquanto, na população em geral, foi a décima terceira principal causa de morte⁽⁴⁾.

1.2.3 – Etiopatogenia

A patogênese da DHGNA foi descrita primeiramente como modelo de dois “golpes” por Day e James em 1988⁽¹⁹⁾. A obesidade e RI são os principais fatores de risco para o desenvolvimento da DHGNA, uma vez que ocasionam mudanças em vias metabólicas hepáticas, resultando em acúmulo intra-hepático de triglicerídeos e lipotoxicidade⁽²⁰⁾.

Na DHGNA, o acúmulo de gordura hepática é proveniente do aumento do fornecimento de ácidos graxos livres para o fígado, aumento da síntese, redução da liberação de triglicerídeos pelas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e redução da beta-oxidação⁽²¹⁾. Universalmente, os pacientes com DHGNA têm RI, o que aumenta a lipólise do tecido adiposo. Os ácidos graxos livres serão absorvidos pelo fígado e podem causar peroxidação lipídica, elevando a produção de citocinas pró-inflamatórias⁽²²⁾. O aumento de ácidos graxos livres pode ultrapassar a beta-oxidação mitocondrial, elevando ainda mais o estresse oxidativo e inflamação⁽²³⁾.

A lipogênese *de novo* hepática também contribui para o desenvolvimento de esteatose, ocorrendo devido associação da hiperinsulinemia com RI, que estimula as enzimas na via de lipogênese *de novo*, aumentando a produção e armazenamento de triglicerídeos. Na DHGNA, a lipogênese *de novo* contribui para 26% do acúmulo hepático de triglicerídeos, o qual representa menos de 5% em indivíduos saudáveis⁽²⁴⁾. A hiperinsulinemia pode levar a redução de liberação de VLDL⁽²⁵⁾, ocasionando acúmulo de triglicerídeos no fígado⁽²⁶⁾, explicando o primeiro “golpe” para evolução da DHGNA.

A inflamação ou esteato-hepatite depende de inúmeros fatores como a presença de ácidos graxos livres, citocinas pró-inflamatórias e adipocinas, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial⁽²¹⁾.

As citocinas podem explicar o segundo “golpe” na evolução da DHGNA por razões semelhantes ao estresse oxidativo e peroxidação lipídica. Elas são

capazes de desenvolver todas as características histológicas clássicas da EHNA, incluindo a morte/apoptose dos hepatócitos pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), quimiotaxia de neutrófilos por interleucina-8 (IL-8), ativação de células estreladas hepáticas (HSCs) por TNF- α e pelo fator de transformação do crescimento beta e formação de corpos de Mallory pelo fator de transformação do crescimento beta⁽²⁷⁾. Alguns efeitos do TNF- α podem ser desencadeados pelo aumento da produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio⁽²⁸⁾.

O aumento das citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6, produzidas pelo fígado e pelo tecido adiposo, ocorre pela ativação de fator nuclear kappa β (NF-Kb)⁽²⁹⁾ devido a peroxidação lipídica ou ativação de receptores Toll-like (TLRs)⁽²⁶⁾. O aumento de TNF- α e IL-6 também estão associados a RI pela interferência na sinalização de insulina⁽³⁰⁾. Por outro lado, a adiponectina⁽³⁰⁾ é produzida pelo tecido adiposo e é uma adipocina anti-inflamatória que pode aumentar a sensibilidade à insulina⁽³¹⁾, entretanto na DHGNA ocorre redução da adiponectina o que diminui a oxidação de ácidos graxos e a gliconeogênese hepática⁽³²⁾. O papel de outras adipocinas, como visfatina, leptina e resistina ainda são controversos⁽³³⁾.

Outro fator relacionado a etiopatogenia da DHGNA é a predisposição genética⁽⁴⁾. Considerando a complexidade dos mecanismos envolvidos, dificilmente é identificado apenas uma alteração genética como causa única da doença. Portanto, muitos genes, relacionados não apenas à acumulação de gordura, mas também aos diferentes mecanismos implicados na progressão da doença, são avaliados e alguns polimorfismos capazes de aumentar a gravidade da DHGNA são identificados⁽²⁴⁾.

Recentemente, há evidência de associação entre microbiota intestinal e a patogênese da DHGNA. A microbiota intestinal pode desempenhar um papel no desenvolvimento da DHGNA, entretanto, poucos estudos humanos têm sido realizados e a maioria é transversal⁽³⁴⁾. Um estudo sugeriu associação entre baixa porcentagem de bacteroidetes fecal e a presença de EHNA,

independente da dieta ou IMC⁽³⁴⁾. Outras condições, como fatores ambientais e deficiência de vitamina D, têm sido associados ao desenvolvimento da DHGNA^(24, 35-37).

1.2.4 – Diagnóstico

A triagem para DHGNA deve ser feita em indivíduos com aumento persistente e inexplicável dos níveis séricos de alanina amino transaminase (ALT), em obesos, diabéticos ou que apresentem SM^(38,39), entretanto, a maioria dos pacientes com DHGNA são assintomáticos e a doença é detectada por exames de sangue de rotina ou exames de imagem⁽⁴⁰⁾. Em alguns casos, os pacientes apresentam leve fadiga ou leve desconforto abdominal no quadrante superior direito⁽¹²⁾.

Apesar da impossibilidade atual de diagnosticar a DHGNA apenas por exame de sangue, a elevação das transaminases pode ser usada como primeiro passo⁽⁴¹⁾. Níveis elevados de ALT e aspartato aminotransferase (AST), na ausência de outra doença hepática, podem sugerir DHGNA⁽⁴¹⁾ e têm sido encontrados em, aproximadamente, 50% dos pacientes com esteatose simples e em 80% dos pacientes com EHNA⁽⁴²⁾. Uma proporção de AST/ALT inferior a 1 é observada na DHGNA e indica EHNA. Entretanto, é importante relatar que pacientes com níveis de transaminases normais e esteatose hepática em exame de imagem podem apresentar EHNA⁽⁴³⁾. Os níveis séricos de gama glutamil transferase (GGT) estão, na maioria das vezes, elevados, assim como os níveis de fosfatase alcalina (FA) podem estar aumentados até duas vezes o limite superior normal⁽⁸⁾.

Nos últimos anos foram desenvolvidos métodos não invasivos para evidenciar o nível de inflamação/fibrose⁽⁴⁰⁾. *Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) fibrosis score* (NFS) inclui seis variáveis: idade, hiperglicemia, IMC, contagem de plaquetas, albumina e relação AST/ALT. A fórmula da NFS é = $-1.675 + 0.037 \times \text{idade (anos)} + 0.094 \times \text{IMC (Kg/m}^2) + 1.13 \times \text{glicemia de jejum alterada (GJA)/diabetes (SIM = 1; NÃO = 0)} + 0.99 \times \text{relação AST/ALT} - 0.013 \times$

plaquetas ($\times 10^9/L$) - $0.66 \times$ albumina (g/dL)⁽⁴⁴⁾. Esse score é usado para classificar a probabilidade de fibrose, sendo $< -1,5$ para probabilidade baixa, $> -1,5$ a $< 0,67$ para probabilidade intermediária e $> 0,67$ para probabilidade alta. Um estudo realizado no Japão validou o NFS mostrando sua sensibilidade, especificidade, seus valores preditivos positivos e negativos para fibrose hepática avançada de 100%, 83%, 63% e 100%, respectivamente⁽⁴⁵⁾.

A ultrassonografia (US) abdominal é um método amplamente utilizado para a primeira constatação de esteatose hepática na prática clínica, tendo sensibilidade de 89% e especificidade de 93%, entretanto, tem sua significância reduzida quando a gordura nos hepatócitos está abaixo de 30%^(12,46), pois não consegue detectá-la. Além disso, não consegue mensurar, de maneira confiável, o nível da esteatose. A espectroscopia por ressonância magnética é um método de imagem altamente sensível e quantitativo, porém o custo e disponibilidade restringem seu uso na prática clínica. A elastografia transitória utilizando FibroScan é uma ferramenta útil para a avaliação da rigidez do tecido refletindo a fibrose hepática⁽⁴⁷⁾. Ela tem sido amplamente utilizada para estimar o grau de fibrose hepática em pacientes com hepatite B e hepatite C⁽⁴⁸⁾. Diversos estudos sobre elastografia transitória na DHGNA relatam que a mensuração da rigidez do fígado pode refletir com precisão o grau de fibrose hepática⁽⁴⁹⁾. As Diretrizes de Prática Clínica da Associação Europeia para Estudo do Fígado em testes não-invasivos para avaliação da gravidade e prognóstico da doença hepática indicam que a elastografia transitória é menos validada na DHGNA devido ao pequeno número de estudos publicados⁽⁵⁰⁾. A biópsia hepática continua sendo a ferramenta mais sensível para o diagnóstico e acompanhamento na DHGNA, considerada como padrão ouro para distinguir a esteatose simples da EHNA. Todavia, é um método invasivo e dispendioso, não sendo indicado rotineiramente para rastreamento e monitorização⁽⁵¹⁾.

O *Pathology Committee of the nonalcoholic steatohepatitis (NASH) Clinical Research Network (CRN)* propôs um sistema, denominado *non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score (NAS)*, que considera os seguintes

parâmetros para diagnóstico de EHNA: esteatose (0-3), inflamação lobular (0-3) e balonização (0-2), sendo EHNA diagnosticada quando o score é superior ou igual a 5⁽¹²⁾. A biopsia hepática é considerada padrão ouro para diagnóstico de EHNA, porém a procura por métodos menos invasivos continua.

1.2.5 – Tratamento

O tratamento da DHGNA inclui diversas alterações como mudança no estilo de vida, com perda de peso gradual, e aumento da atividade física, sendo que a redução de 7 a 10% do peso leva a melhora significativa na histologia hepática em pacientes com EHNA⁽⁵²⁾. Não há ainda medicamento recomendado especificamente para DHGNA. Entretanto a partir do aumento de casos avançados da doença, que hoje está entre as principais indicações de transplante hepático, existe consenso quanto à necessidade de tratamento medicamentoso e a abordagem da EHNA é atualmente considerada uma necessidade médica não atendida. Dentre as medidas para redução do risco da DHGNA mostrou-se aconselhável um aumento da ingestão de ácidos graxos poliinsaturados e monoinsaturados, incluindo ômega-3. Há estudos com componentes bioativos e antioxidantes que teriam possíveis efeitos benéficos na prevenção e tratamento da doença, como vitamina E, polifenóis, selênio, ferro e resveratrol⁽⁵³⁾.

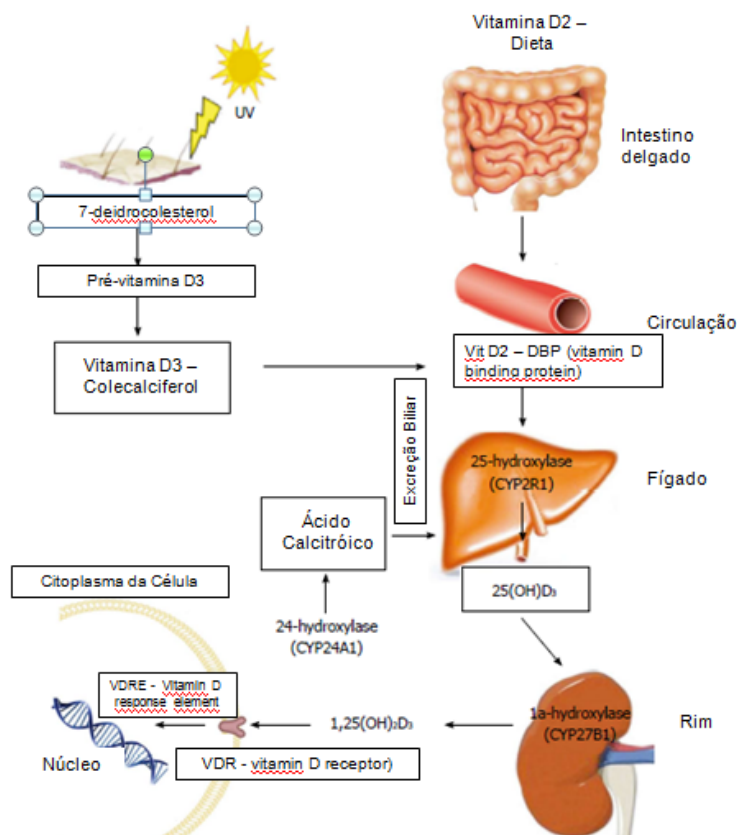
Os sensibilizadores de insulina e agentes hepatoprotetores estão incluídos na terapêutica farmacológica, porém, não são indicados para todos os casos de DHGNA. A pioglitazona pode ser utilizada para tratar aqueles pacientes com EHNA comprovada por biopsia hepática, entretanto, pouco se sabe a respeito da segurança e eficácia do uso dessa droga a longo prazo⁽¹⁾. Devido as funções da vitamina D na regulação da proliferação e diferenciação celular, propriedades imunomoduladora, antiinflamatória e antifibrótica, a reposição de vitamina D tem sido também estudada como tratamento da DHGNA⁽⁵⁴⁾.

1.3 – Vitamina D e Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica

1.3.1 – Definição e Metabolismo

A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel. Embora existam diversas formas, a vitamina D₂ (ergocalciferol) e a vitamina D₃ (colecalciferol) são as duas principais. A vitamina D₂ é produzida por alguns organismos de fitoplâncton, invertebrados e leveduras em resposta a radiação ultravioleta, mas não é constitutivamente produzida por vertebrados, sendo explorada comercialmente e usada para fortificação e suplementação. A vitamina D₃, por outro lado, origina-se na pele da maioria dos vertebrados incluindo os seres humanos, após a radiação ultravioleta B ao 7-deidrocolesterol. A vitamina D₂ da dieta é absorvida pelo intestino delgado e incorporada em quilomicrons, os quais são transportados ao fígado ligados à proteína ligadora de vitamina D. No fígado, as duas formas de vitamina D (da pele e da dieta) são metabolizadas pela 25-hidroxilase (CYP2R1), para 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), maior metabólito circulante e o indicador de reserva de vitamina D mais usado. A 25(OH)D é transportada aos rins onde passa por hidroxilação pela 1- α -hidroxilase (CYP27B1), transformando-se em sua forma biologicamente ativa, 1- α ,25-diidroxi-vitamina D (1,25(OH)₂D ou calcitriol). Finalmente, por meio da ligação do receptor de vitamina D, a 1,25(OH)₂D é capaz de exercer sua ação biológica. A síntese de 1,25(OH)₂D é regulada pela atividade da 1- α -hidroxilase (CYP27B1) e da 24-hidroxilase (CYP24A1), sendo esta última responsável por tornar a 1,25(OH)₂D em hidrossolúvel e biologicamente inativo ácido calcitróico o qual é, posteriormente, excretado pela bile. O hormônio da paratireóide (PTH), a 1,25(OH)₂D e o fator de crescimento fibroblástico 23 são os principais reguladores dessas enzimas. A 1,25(OH)₂D tem sua síntese reduzida mediante a inibição de feedback, mas também por inibição do PTH, o qual é o principal estímulo para a transcrição de 1- α -hidroxilase (CYP27B1). O fator de crescimento fibroblástico 23, secretado pelos osteoblastos, atua nos rins para suprimir a expressão renal de 1- α -hidroxilase (CYP27B1) e promover a atividade da 24-hidroxilase (CYP24A1), resultando na diminuição da produção de 1,25(OH)₂D^(7,55), representado pela figura 2.

Figura 2 – Síntese e metabolismo da Vitamina D



Fonte: Adaptado de: *World J Gastroenterol.*, 2015. **21**(6): p. 1718-1727.

1.3.2 – Funções da Vitamina D

A vitamina D é conhecida, tradicionalmente, por apresentar a função de regulação de cálcio e fósforo para a mineralização saudável dos ossos⁽⁵⁶⁾, entretanto, nas últimas décadas, um crescente interesse tem surgido em relação ao papel desenvolvido pela vitamina D no metabolismo de diferentes órgãos e sistemas humanos (quadro 1). Há uma interação biológica complexa entre a vitamina D e o organismo, estando seus receptores envolvidos em diversas vias de sinalização⁽⁵⁷⁾.

Quadro 1 – Doenças associadas à deficiência de vitamina D

Sistemas	Doenças associadas
Cardiovascular	Doença cardiovascular, hipotensão ortostática.
Respiratório	Bronquiectasia, asma, fibrose cística, bronquiolite, apnéia obstrutiva do sono.
Gastrointestinal	Doença inflamatória intestinal, hepatite crônica, cirrose hepática, pancreatite.
Neurológico	Esclerose múltipla, miastenia gravis, depressão.
Músculo-esquelético	Fraqueza muscular, osteoartrite, artrite reumatóide, artrite juvenil.
Metabólico	SM, DM, nefropatia diabética, infertilidade (masculina), doença renal crônica.
Pele	Psoríase, lúpus eritematoso sistêmico, eczema
Outros	Câncer de mama, colorretal, ovário, pulmão e próstata.

Fonte: Age and Ageing, **43**(5): p. 589-591⁽⁵⁸⁾.

A descoberta de expressão de VDR em diversos tecidos tem estimulado o estudo das propriedades pleiotrópicas da vitamina D e introduziu a idéia de atividade parácrina/autócrina em regular a proliferação celular, diferenciação e apoptose⁽⁵⁹⁾.

O receptor da vitamina D pertence à superfamília dos receptores nucleares dos fatores reguladores da transcrição dos hormônios esteroides, ácido retinoico, hormônio tireoideano e vitamina D. Após a ligação da 1,25(OH)₂D com o VDR, este interage com o receptor do ácido retinoico, formando um complexo heterodimérico (RXR-VDR) que, por sua vez, se liga a sequências específicas do DNA, conhecidas como elemento responsivo à vitamina D (VDRE). Os principais órgãos-alvo para a 1,25(OH)₂D são o intestino, o osso, as glândulas paratiroides e o rim. Entretanto, a presença de seus receptores foi demonstrada em vários outros tecidos⁽⁶⁰⁾.

1.3.3 – Epidemiologia e diagnóstico da hipovitaminose D

A deficiência de vitamina D está associada à fragilidade óssea em crianças e adultos e ao aumento do risco de doenças crônicas como DM tipo 1 e tipo 2, doença cardiovascular, doença hepática e câncer^(58,61).

As fontes de vitamina D são a produção cutânea (exposição à luz solar), principal fonte, e a dieta, porém, apenas alguns alimentos a contêm naturalmente, e poucos são ricos em vitamina D. No Brasil, a dieta é, normalmente, pobre em vitamina D⁽⁶²⁾. Alguns fatores que interferem nos níveis séricos de vitamina D são baixa exposição solar, tipo de pele (hiperpigmentação), baixa ingestão alimentar, poluição, uso de protetor solar, tabagismo, envelhecimento, má absorção intestinal, doença renal, doença hepática, medicamentos, fatores genéticos e obesidade, podendo influenciar na síntese ou alterar o metabolismo da vitamina^(63,64,65).

O maior metabólito de vitamina D circulante é 25(OH)D, com meia vida sérica de 3 semanas, refletindo a entrada de vitamina D da síntese cutânea e da ingestão alimentar. O nível sérico de 25(OH)D é a medida padrão do *status* de vitamina D. Embora 1,25(OH)2D seja a forma ativa de vitamina D, o mesmo não deve ser usado para determinar o *status* pois geralmente está normal ou, até mesmo, elevado em pacientes com deficiência de vitamina D^(61,65).

Os níveis séricos de vitamina D são classificados como deficiência, insuficiência ou suficiência^(59,66). Apesar de não haver consenso quanto ao valor de corte para a definição “suficiência em vitamina D”^(67,68), os valores mais discutidos em literatura, baseados em estudos populacionais com ênfase na saúde óssea e homeostase do cálcio, variam de 20 a 32 ng/mL (50 a 80 nmol/L)⁽⁶⁷⁾.

Muitos especialistas afirmam que, para a correção do hiperparatireoidismo secundário, redução do risco de quedas e fraturas e a máxima absorção de cálcio, o melhor ponto de corte de 25(OH)D é de 30 ng/mL (75 nmol/L)^(69,70).

Assim, concentrações séricas abaixo de 20 ng/mL (50 nmol/L) são classificadas como deficiência, entre 20 e 29 ng/mL (50 e 74 nmol/L) como insuficiência e entre 30 e 100 ng/mL (75 e 250 nmol/L) como suficiência. Concentrações séricas de 25(OH)D abaixo de 30 ng/mL (75 nmol/L) são consideradas por muitos autores como hipovitaminose D^(59,69). Esses valores foram reconhecidos pela diretriz da *Endocrine Society*⁽⁶⁹⁾, porém estão diferentes dos valores aceitos pelo *Institute of Medicine*, que classifica como suficiência, valores acima de 20 ng/mL; deficiência, valores inferiores a 12 ng/mL e risco cardiovascular, valores acima de 50 ng/mL^(58,64). Entretanto é discutido atualmente que a maioria da população apresenta necessidade de vitamina D menor ou igual 20 ng/mL. Além disso, considerando-se a definição de necessidade média estimada (EAR) de nutrientes, aproximadamente metade da população apresentaria necessidade de 16 ng/mL ou menos de vitamina D⁽⁷¹⁾. O objetivo para níveis séricos de vitamina D seria, portanto, níveis acima da EAR, que significa valor de ingestão de nutrientes estimado para atender a necessidade de metade dos indivíduos saudáveis em um determinado grupo⁽⁷²⁾, e não acima da ingestão dietética recomendada (RDA)⁽⁷¹⁾, recomendação que atende nível médio diário de ingestão alimentar suficiente para satisfazer a necessidade de nutrientes de quase todos (97% a 98%) indivíduos saudáveis em um determinado grupo⁽⁷²⁾.

A mensuração da concentração do paratormônio, citado por alguns autores, para identificação dos níveis ideais de vitamina D é outro método considerado controverso, pois a relação entre 25(OH)D e paratormônio é inconsistente e nenhum limiar claro que define “suficiência” foi estabelecido⁽⁷³⁾.

A prevalência da deficiência de vitamina D varia entre 52 a 72% como indicado por diversas pesquisas nacionais sobre saúde e nutrição envolvendo diferentes países, sendo um problema de saúde pública^(74,75). Nas últimas duas décadas, diversos estudos epidemiológicos nos Estados Unidos, Canadá, Reino Unido e Nova Zelândia têm mostrado que 52-77% da população destes países apresentam níveis de 25(OH)D inferiores a 30 ng/mL e 18% a 36% apresentam níveis inferiores a 20 ng/mL. Na Austrália, a deficiência de vitamina D tem sido

identificada em alguns subgrupos, incluindo negros, idosos e indivíduos que vivem em lares de idosos⁽⁷⁶⁾.

No Brasil, estudos recentes têm mostrado alta prevalência de hipovitaminose D em diferentes faixas etárias e em ambos os sexos. Os níveis séricos de 25(OH)D estavam inferiores a 20 ng/mL em 60% de 136 estudantes hígidos (64 meninos e 72 meninas) com idade entre 16-20 anos em São Paulo⁽⁷⁷⁾, e em 57% de 73 médicos de um hospital geral em Porto Alegre⁽⁷⁸⁾. Em uma coorte de 102 idosos saudáveis, com idade média de 77 anos, do Sul do Brasil, 86% apresentavam níveis de 25(OH)D abaixo de 20 ng/mL. Os níveis de 25(OH)D não foram associados à idade, sexo ou exposição solar no estudo⁽⁷⁹⁾.

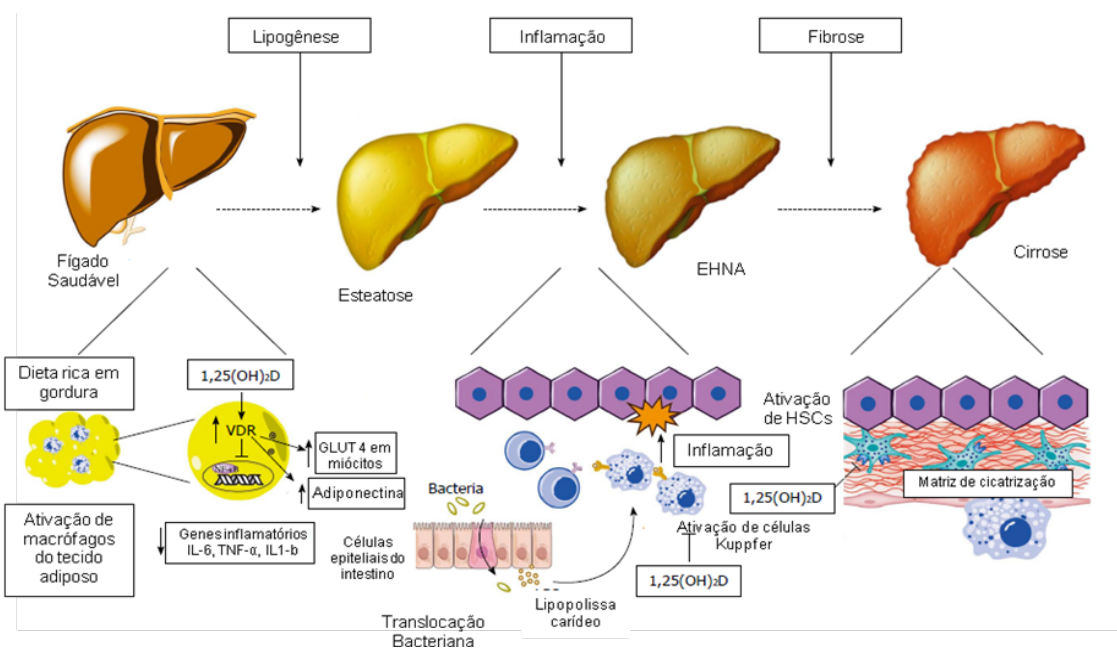
Quando a EAR é utilizada para avaliação de hipovitaminose, a frequência de risco de deficiência e de deficiência é bem menor. Nos últimos anos, segundo dados da pesquisa nacional sobre saúde e nutrição dos Estados Unidos de 2007 a 2010, considerando pontos de corte baseados na EAR, apenas 13% dos americanos de 1 a 70 anos de idade estão “em risco” para vitamina D inadequada e menos de 6% da população apresentam deficiência de vitamina D (níveis séricos de 25(OH)D menor que 12,5 ng/mL)⁽⁷⁴⁾.

1.3.4 – Vitamina D na DHGNA

A evolução da inflamação hepática na DHGNA e a progressão da esteatose simples para EHNA e fibrose é complexa⁽⁸⁰⁾, como pode ser visto na figura 3. Como a compreensão da patogênese da EHNA continua em desenvolvimento, a vitamina D emerge como um potencial co-fator no desenvolvimento e progressão da DHGNA⁽⁶⁸⁾.

Dados epidemiológicos sugerem que níveis séricos baixos de 25(OH)D estão associados à DHGNA, diagnosticada por métodos bioquímicos, imagem ou biópsia hepática. Uma meta-análise recente mostrou que indivíduos com DHGNA apresentavam 26% a mais de probabilidade de serem deficientes em vitamina D quando comparados ao grupo controle⁽⁸¹⁾.

Figura 3 – Efeito metabólico, anti-inflamatório e anti-fibrótico na vitamina D



Fonte: Adaptado de: *World J Gastroenterol.*, 2015. **21**(6): p. 1718-1727

Os efeitos biológicos da vitamina D são mediados pelo VDR, um fator de transcrição que pertence à família de receptores hormonais nucleares⁽⁸²⁾. O VDR é expresso em quase todas as células humanas e parece participar, de maneira direta ou indireta, da regulação de cerca de 3% do genoma humano⁽⁸³⁾. Como vários outros membros dessa família de receptores, o VDR age por meio da heterodimerização com uma das três isoformas do receptor do retinoide X (RXR)⁽⁸³⁾. Assim, em sua estrutura, ele apresenta domínios específicos para o acoplamento da 1,25(OH)₂D, heterodimerização com o RXR, ligação ao DNA e ativação da transcrição⁽⁸⁴⁾.

A 1,25(OH)₂D liga-se à porção hidrofóbica do VDR induzindo uma mudança conformacional e formação do complexo transcricional hormônio-receptor⁽⁸⁵⁾. Esse complexo hormônio-receptor é heterodimerizado com o RXR e esse heterodímero 1,25(OH)₂D-VDR-RXR acopla-se a uma sequência específica do DNA nos seus genes-alvo, denominada elemento-resposta da vitamina D (VDRE)⁽⁸⁴⁾. Entretanto, para promover a ativação ou a repressão gênica, o heterodímero recruta complexos de proteínas co-regulatórias⁽⁸⁶⁾. Essas moléculas coativadoras (como alguns membros da família do coativador de

receptores de esteróides (SRC) e do NCoA-62) e co-repressores (como *nuclear receptor corepressor* (NcoR) e mediador do silenciador do receptor de hormônio tireoidiano e retinóides (SMRT)) do VDR é que permitem a ligação entre o receptor e a maquinaria de transcrição, desencadeando a resposta biológica⁽⁸⁴⁾.

Estima-se que o VDR regula mais de 200 genes envolvidos no metabolismo da glicose e lipídio⁽⁸⁷⁾, inflamação, proliferação e diferenciação celular e apoptose⁽⁸⁸⁾. Estudo prévio mostrou associação direta entre níveis séricos de vitamina D e adiponectina, estando níveis baixos de ambas relacionadas ao aumento da obesidade⁽⁸⁹⁾. A adiponectina é uma adipocitocina anti-inflamatória que desempenha sua função através de dois receptores. A obesidade está associada à hipoadiponectinemia e os níveis de adiponectina aumentam após a perda de peso⁽⁹⁰⁾. A adiponectina leva ao influxo de Ca^{2+} extracelular pelo receptor de adiponectina 1, que é necessário para a ativação da proteína quinase por meio da adenosina monofosfato (AMPK) e Sirtuína 1 (Sirt1)⁽⁹¹⁾. A deleção específica de hepatócitos de Sirt1 leva não apenas a esteatose hepática, mas também ao estresse do retículo endoplasmático e à inflamação hepática⁽⁹²⁾.

Outra associação da vitamina D, relacionado ao desenvolvimento da DHGNA, está no controle do metabolismo glicídico podendo relacionar a RI. As evidências atuais sugerem que a influência da $1,25(OH)_2D$ na homeostase glicídica seja mediada por ações diretas nas células betapancreáticas, as quais expressam CYP27B1 e VDR. Os prováveis mecanismos envolvidos no controle da síntese e secreção da insulina envolveriam a modulação do influxo e da reserva de Ca^{2+} no citossol, por mecanismos rápidos não genômicos do VDR na membrana das células betapancreáticas, facilitando a clivagem da proinsulina em insulina pelas endopeptidases cálcio-dependentes e estimulando a exocitose dos grânulos de insulina⁽⁹³⁾.

Embora diversas pesquisas relatam associação entre níveis séricos baixos de vitamina D e desenvolvimento de DHGNA^(94,95,96,97,98), um estudo, com 239

indivíduos, não encontrou relação entre RI, quantidade de gordura hepática ou gravidade da EHNA com hipovitaminose D⁽⁹⁹⁾. O quadro 2 relaciona os estudos publicados que correlacionam os níveis séricos de vitamina D e DHGNA.

Quadro 2 – Estudos sobre níveis de vitamina D e DHGNA

Autor (ano)	Título	N	Método	Resultados
Bril, F., et al. 2015 ⁽⁹⁹⁾ E.U.A	Relationship of vitamin D with insulin resistance and disease severity in non-alcoholic steatohepatitis.	239 indivíduos	Realização de Clamp euglicêmico hiperinsulinêmico para RI, de espectroscopia por ressonância magnética para acúmulo de gordura hepática, absorciometria de raios-x de dupla energia para gordura corporal total e biópsia hepática para gravidade da doença hepática. Deficiência vitamina D (≤ 20 ng/mL), insuficiência (21-29 ng/mL) e suficiência (≥ 30 ng/mL). Avaliação de pacientes com EHNA e sem EHNA.	Indivíduos com EHNA apresentavam maior RI, mas concentrações de vitamina D foram similares entre os grupos. Sugere ausência de relação dos níveis séricos de vitamina D com RI, quantidade de gordura hepática ou gravidade da EHNA.
Kücükazman, M. et al. (2014) ⁽⁹⁴⁾ Turquia	The association of vitamin D deficiency with nonalcoholic fatty liver disease	211 indivíduos (57 controle e 154 DHGNA). Sem história de alcoolismo, doença hepática ou suplemento de vitamina D	Indivíduos atendidos no ambulatório de endocrinologia e gastroenterologia, realizado análise bioquímica de 25(OH)D, com intervalo de normalidade de 30-100 ng/mL, e US abdominal.	Grupo DHGNA com vitamina D significativamente menor que grupo controle ($p < 0,0001$). Sem diferenças de gênero, idade ou IMC entre os grupos.
Dasarathy J. et al. 2014 ⁽⁹⁵⁾ E.U.A	Hypovitaminosis D is associated with increased whole body fat mass and greater severity of non alcoholic fatty liver disease	148 indivíduos com DHGNA por biópsica (81 com EHNA e 67 com esteatose). Grupo controle (n=39)	Análise bioquímica de 25(OH)D, utilização de NAS CRN para classificação da biópsia e análise de imagens da tomografia computadorizada do abdômen	Vitamina D foi, significativamente, menor no grupo DHGNA vs grupo controle. Aumento do NAS associado a concentrações mais baixas de vitamina D ($p < 0,001$). Baixos níveis de vitamina

				D associados à gravidade da esteatose, balonização e fibrose ($p < 0,05$).
Hao, Y., et al. 2014 ⁽⁹⁶⁾ China	Serum vitamin D is associated with non-alcoholic fatty liver disease in Chinese males with normal weight and liver enzymes	514 indivíduos (22 a 79 anos), IMC normal, 438 sem DHGNA e 76 com DHGNA	Análise de enzimas hepáticas, realização de US abdominal para diagnosticar DHGNA, cálculo de índice de gordura hepática e verificação de 25(OH)D3 sérico por eletroquimioluminescência	Média dos níveis séricos de 25(OH)D3 foi de 15.32 ± 5.77 ng/mL. O grupo DHGNA níveis séricos de 25(OH)D3 menores vs grupo sem DHGNA ($p = 0,002$). Relação inversa entre níveis de vitamina D e DHGNA, mesmo em indivíduos com IMC normal.
Lu, Z., et al. 2015 ⁽¹⁰⁰⁾ China	Serum vitamin D levels are inversely related with non-alcoholic fatty liver disease independent of visceral obesity in Chinese postmenopausal women	451 mulheres após menopausa – (45 a 74 anos). Participantes do estudo com obesidade de Shanghai. (157 com DHGNA).	Realização de ressonância magnética e US abdominal. Mulheres com área de gordura visceral ≥ 80 cm classificadas como obesidade abdominal. verificação de 25(OH)D3 sérico por eletroquimioluminescência	Mulheres obesas vs sem obesidade abdominal menores níveis séricos de 25(OH)D3 ($p < 0,01$). Níveis séricos de 25(OH)D3 menores sexo feminino ($p < 0,05$).
Chung, G.E., et al. 2016 ⁽⁹⁷⁾ Coreia do Sul	The serum vitamin D level is inversely correlated with nonalcoholic fatty liver disease.	5409 indivíduos (1606 com DHGNA e 3749 sem DHGNA) – idade 51.7 ± 10.3 anos.	Realização de US abdominal para diagnóstico de DHGNA e verificação de 25(OH)D3 sérico por eletroquimioluminescência	Correlação inversa entre DHGNA e níveis de vitamina D após ajuste para sexo e idade. Prevalência de DHGNA inversamente de aos níveis séricos de vitamina D ($p < 0,001$). Sugere-se que a vitamina D tenha efeito protetor no

				desenvolvimento da DHGNA.
Hourigan, S.K., et al. 2015 ⁽¹⁰¹⁾ E.U.A	The Relationship between Vitamin D Status and Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Children.	102 crianças – idade entre 2 a 18 anos	Crianças com DHGNA por biópsia. 25(OH)D3 sérico por quimioluminescência. Analisados dados demográficos, antropométricos e marcadores laboratoriais. Três categorias de níveis de vitamina D: deficiência (≤ 20 ng/mL), insuficiência (21-29 ng/mL) e suficiência (≥ 30 ng/mL).	78% das crianças apresentavam deficiência ou insuficiência de vitamina D. Não foi encontrado associação entre deficiência de vitamina D e gravidade da doença por biópsia. Maiores níveis de triglicérides em crianças com deficiência de vitamina D ($p=0.004$)
Souza, W.N., et al. 2016 ⁽⁹⁸⁾ Brasil	Association between 25-hydroxyvitamin D and inflammatory biomarker levels in a cross-sectional population-based study, São Paulo, Brazil.	281 indivíduos entre 20 a 59 anos	Parâmetros antropométricos, medição de pressão arterial, e uma amostra de sangue em jejum foram recolhidos. A concentração de 25(OH)D, os níveis plasmáticos de biomarcadores inflamatórios (proteína C-reativa, IL -1 β , IL-6, IL-8, IL-10, factor de necrose tumoral α , IL-12p70, adiponectina, proteína-1 de monócitos, molécula de adesão intercelular-1, e molécula de adesão solúvel intercelular 1), e de lipídios no sangue foram avaliados.	IMC interage com níveis de 25(OH)D níveis, modulando a resposta inflamatória e afetando os níveis plasmáticos de IL-6, TNF- α , e os níveis de adiponectina

A suplementação de vitamina D é recomendada na hipovitaminose D, a Sociedade de Endocrinologia sugere uso de vitamina D2 ou vitamina D3 para tratar e prevenir a deficiência de vitamina D. Para bebês e crianças de 0 a 1 ano de idade, com hipovitaminose D, deve-se ofertar 2.000 unidades internacionais (UI) por dia de vitamina D2 ou vitamina D3, ou 50.000 UI de vitamina D2 ou vitamina D3 uma vez por semana, por seis semanas para atingir níveis séricos de 25(OH)D acima de 30 ng/mL, mantendo posteriormente a oferta de 400 a 1.000 UI por dia. Para crianças de 1 a 18 anos de idade, com hipovitaminose D, deve-se ofertar 2.000 UI por dia de vitamina D2 ou vitamina D3 por, pelo menos, seis semanas, ou 50.000 UI de vitamina D2 uma vez por semana por, no mínimo, seis semanas para atingir níveis séricos de 25(OH)D acima de 30 ng/mL mantendo, posteriormente, a oferta de 600 a 1.000 UI por dia⁽⁸⁸⁾.

Adultos com deficiência de vitamina D devem ser tratados com 50.000 UI de vitamina D2 ou vitamina D3 uma vez por semana, por oito semanas ou equivalente a 6.000 UI de vitamina D2 ou vitamina D3 diariamente para atingir níveis séricos de 25(OH)D acima de 30 ng/mL mantendo, posteriormente, a oferta de 1.500 a 2.000 UI por dia. Em indivíduos obesos, com síndromes de má absorção e indivíduos em uso de medicação que afeta o metabolismo de vitamina D, sugere-se dose maior (duas a três vezes maior, pelo menos 6.000 a 10.000 UI por dia) para atingir níveis séricos de 25(OH)D acima de 30 ng/mL mantendo, posteriormente, a oferta 3.000 a 6.000 UI por dia⁽⁸⁸⁾.

A associação entre níveis séricos de vitamin D e DHGNA tem sido cada vez mais reconhecida, entretanto os mecanismos que ilustram essa associação ainda não são totalmente compreendidos⁽¹⁰²⁾.

1.4 – Referências Bibliográficas

1. Chalasani, N., et al. *The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association*. Hepatology, 2012. **55**(6): p. 2005-2023.
2. Day, C.P. *From Fat to Inflammation*. Gastroenterology, 2006. **130**(1): p. 207-210.
3. Vernon, G., Baranova, A., Younossi, Z.M. *Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults*. Aliment Pharmacol Ther, 2011. **34**(1): p. 274-285.
4. Adams, L.A., et al. *The Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Population-Based Cohort Study*. Gastroenterology, 2005. **129**(1): p. 113-121.
5. Kwok, R.M., Torres, D.M., Harrison, S.A. *Vitamin D and Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Is It More Than Just an Association?* Hepatology, 2013. **58**(3): p. 1166-1174.
6. Lu, L., et al. *Plasma 25-Hydroxyvitamin D Concentration and Metabolic Syndrome Among Middle-Aged and Elderly Chinese Individuals*. Diabetes Care, 2009. **32**(7): p. 1278-1283.
7. Kitson, M.T., Roberts, S.K. *D-livering the message: The importance of vitamin D status in chronic liver disease*. Journal of Hepatology, 2012. **57**: p. 897-909.
8. Ludwig, J., et al. *Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease*. Mayo Clin Proc, 1980. **55**(7): p. 434-438.
9. Gorman, S., et al. *Can Skin Exposure to Sunlight Prevent Liver Inflammation?* Nutrients, 2015. **7**(5): p. 3219-3239.
10. Loomba, R., Sanyal, A.J. *The global NAFLD epidemic*. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol 2013. **10**: p. 686-690.
11. Munteanu, M.A., Nagy, G.A., Mircea, P.A. *Current Management of NAFLD*. Clujul Medical, 2016. **89**(1): p. 19-23.
12. Tolman, K.G., Dalpiaz, A.S. *Treatment of non-alcoholic fatty liver disease*. Therapeutics and Clinical Risk Management, 2007. **3**(6): p. 1153-1163.

13. Weiß, J., Rau, M., Geier, A. *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Epidemiology, Clinical Course, Investigation, and Treatment*. Deutsches Ärzteblatt International, 2014. **111**: p. 447-452.
14. Younossi, Z.M., et al. *Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008*. Clin Gastroenterol Hepatol., 2011. **9**(6): p. 524-530.
15. Blachier M., et al. *The burden of liver disease in Europe. A Review of available epidemiological data. European Association for the Study of the Liver 2013*. J Hepatol., 2013. **58**: p. 593-608.
16. Cotrim, H.P., et al. *Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile*. Ann Hepatol., 2011. **10**(1): p. 33-37.
17. Ayonrinde, O.T., et al. *Gender-specific differences in adipose distribution and adipocytokines influence adolescent nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2011. **53**(3): p. 800-809.
18. Koehler, E.M., et al. *Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in the elderly: Results from the Rotterdam study*. J Hepatol., 2012. **57**: p. 1305-1311.
19. Day, C.P. *Steatohepatitis: a tale of two "hits"?* Gastroenterology, 1998. **114** (4): p. 842-845.
20. Musso, G., Gambino, R., Cassader M. *Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)*. Prog Lipid Res., 2009. **48**: p: 1-26.
21. Dowman, J.K., Tomlinson, J.W., Newsome, P.N. *Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease*. QJM, 2010. **103**(2): p. 71-83.
22. Bugianesi, E., et al. *Fibrosis in Genotype 3 Chronic Hepatitis C and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Role of Insulin Resistance and Hepatic Steatosis*. Hepatology, 2006. **44**(6): p. 1648-1651.
23. Schreuder, T.C., et al. *Nonalcoholic fatty liver disease: an overview of current insights in pathogenesis, diagnosis and treatment*. World J Gastroenterol, 2008. **14**(16): p. 2474-2486.
24. Petta, S., Muratore, C., Craxì, A. *Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: The present and the future*. Digestive and Liver Disease, 2009. **41**(9): p. 615-625.
25. Jacobs, R.L., et al. *Hepatic CTP: Phosphocholine Cytidylyltransferase- α Is a Critical Predictor of Plasma High Density Lipoprotein and Very Low Density Lipoprotein*, 2007. **283**(4): p. 2147-2155.

26. Schwenger, K.J.P., Allard, J.P. *Clinical approaches to non-alcoholic fatty liver disease*. World J Gastroenterol., 2014. **20**(7): p. 1712-1723.
27. Pessayre, D., et al. *Mitochondria in Steatohepatitis*. Seminars in liver disease, 2001. **21**(1): p. 57-69.
28. Day, C.P. *Pathogenesis of steatohepatitis*. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 2002. **16**(5): p. 663-678.
29. Cortez-Pinto, H., Moura, M.C., Day, C.P. *Non-alcoholic steatohepatitis: From cell biology to clinical practice*. Journal of Hepatology, 2006. **44**(1): p. 197-208.
30. Crespo, J., et al. *Gene Expression of Tumor Necrosis Factor α and TNF-Receptors, p55 and p75, in Nonalcoholic Steatohepatitis Patients*. Hepatology, 2001. **34**(6): p. 1158-1163.
31. Berg, A.H., Combs, T.P., Scherer, P.E. *ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism*. Trends in endocrinology and metabolism, 2002. **13**(2): p. 84-89.
32. Widhalm, K., Ghods, E. *Nonalcoholic fatty liver disease: a challenge for pediatricians*. International Journal of Obesity, 2010. **34**(10): p. 1451-1467.
33. Jarrar, M.H., et al. *Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease*. Alimentary pharmacology & therapeutics, 2008. **27**(5): p. 412-421.
34. Mouzaki, M., et al. *Intestinal Microbiota in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. Hepatology, 2013. **58**(1): p. 120-127.
35. Baranova A., et al. *Systemic review: association of polycystic ovary syndrome with metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease*. Aliment Pharmacol Ther., 2011. **33**(7): p. 801-814.
36. Valenti, L., Ludovica, F.A., Fargion, S. *The immunopathogenesis of alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis: two triggers for one disease?* Semin Immunopathol., 2009. **31**(3): p.359-369.
37. Corrado, R.L., Torres, D.M., Harrison, S.A. *Review of Treatment Options for Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. Medical Clinics of North America, 2014. **98**(1): p. 55-72.
38. Dowman, J.K., Tomlinson, J.W., Newsome, P.N. *Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis*. Aliment Pharmacol Ther., 2011. **33**: p. 525-540.
39. Cortez-Pinto, H., Camilo, H.M. *Non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH): diagnosis and clinical course*. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 2004. **18**(6): p. 1089-1104.

40. Younossi, Z.M., et al. *Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008*. Clin Gastroenterol Hepatol., 2011. **9**(6): p. 524-530.
41. Adams, L.A., Feldstein, A.E. *Non-invasive diagnosis of nonalcoholic fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis*. Journal of Digestive Diseases, 2011. **12**: p. 10-16.
42. Yan, E., et al. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathogenesis, Identification, Progression, and Management*. Nutrition Reviews, 2007. **65**(8): p. 376-384.
43. Adams, L.A., Angulo, P., Keith, L.D. *Nonalcoholic fatty liver disease*. JAMC, 2005. **172**(7): p. 899-905.
44. Angulo, P., et al. *The NAFLD Fibrosis Score: A Noninvasive System That Identifies Liver Fibrosis in Patients with NAFLD*. Hepatology, 2007. **45**(4): p. 846-854.
45. Treeprasertsuk, S., et al. *NAFLD fibrosis score: A prognostic predictor for mortality and liver complications among NAFLD patients*. World J Gastroenterol., 2013. **19**(8): p. 1219-1229.
46. Dasarathy, S., et al. *Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: A prospective study*. Journal of Hepatology, 2009. **51**: p. 1061-1067.
47. Sandrin, L., et al. *Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis*. Ultrasound in Medicine & Biology, 2003. **29**(12): p. 1705-1713.
48. Wong, G. LH. *Transient elastography: Kill two birds with one stone?* World Journal of Hepatology, 2013. **5**(5): p. 264-274.
49. Yoshioka K., Hashimoto S., Kawabe N. *Measurement of liver stiffness as a non-invasive method for diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease*. Hepatology research, 2015. **45**(2): p. 142-151.
50. European Association for the Study of the Liver, Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Hgado. *EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis*. J Hepatol., 2015. **63**: p. 237-264.
51. Fedchuk, L., et al. *Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. Aliment Pharmacol Ther., 2014. **40**: p.1209-1222.

52. Promrat, K., et al. *Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis*. *Hepatology*, 2010. **51**(1): p.121-129.
53. Dongiovanni, P., et al. *Nutritional therapy for nonalcoholic fatty liver disease*. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2016. **29**: p. 1-11.
54. Alvarez, J.A., Ambika, A. *Role of Vitamin D in Insulin Secretion and Insulin Sensitivity for Glucose Homeostasis*. *International Journal of Endocrinology*, 2010. p. 1-18.
55. Eliades, M., Spyrou, E. *Vitamin D: a new player in non-alcoholic fatty liver disease?* *World J Gastroenterol.*, 2015. **21**(6): p. 1718-1727.
56. Mousa, A., et al. *Effect of vitamin D supplementation on inflammation: protocol for a systematic review*. *BMJ Open*, 2016. **6**(4): p. 1-5.
57. Parker, J., et al. *Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: Systematic review and meta-analysis*. *Maturitas*, 2010. **65**(3): P. 225-236.
58. Sahota, O. *Understanding vitamin D deficiency*. *Age and Ageing*, 2014. **43**(5): p. 589-591.
59. Holick, M.F. *Vitamin D Deficiency*. *The new england journal of medicine*, 2007. **357**(3): p. 266-281.
60. McDonnell, D.P., Pike, J.W., O'Malley, B.W. *The vitamin d receptor: A primitive steroid receptor related to thyroid hormone receptor*. *The Journal of steroid biochemistry*, 1988. **30**(1): p. 41-46.
61. Holick, M.F. *Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease*. *Am J Clin Nutr.*, 2004. **80**(6): p. 1678-1688.
62. Cabral, M.A., et al. *Prevalence of vitamin D deficiency during the summer and its relationship with sun exposure and skin phototype in elderly men living in the tropics*. *Clinical Interventions in Aging*, 2013. **8**: p. 1347-1351.
63. Adams, J.S., Hewison, M. *Update in Vitamin D*. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2010. **95**(2): p. 471-478.
64. Pérez-Hernández, N., et al. *Vitamin D and its effects on cardiovascular diseases: a comprehensive review*. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 2016. **27**: p. 1-12.
65. Premaor, M.O., Furlanetto, T.W. *Hipovitaminose D em Adultos: Entendendo Melhor a Apresentação de Uma Velha Doença*. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, 2006. **50**(1): p. 25-37.
66. Heaney, R.P. *What Is Vitamin D Insufficiency? And Does It Matter?*

Calcified Tissue International, 2013. **92**(2): p. 177-183.

67. Heaney, R.P, Holick, M.F. *Why the IOM Recommendations for Vitamin D Are Deficient*. Journal of Bone and Mineral Research, 2011. **26**(3): p. 455-457.

68. Chapuy, M.C., et al. *Prevalence of Vitamin D Insufficiency in an Adult Normal Population*. Osteoporos Int., 1997. **7**(5): p. 439-443.

69. Holick, M.F., et al. *Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline*. J Clin Endocrinol Metab., 2011. **96**(7): p. 1911-1930.

70. Dawson-Hughes, B., et al. *Estimates of optimal vitamin D status*. Osteoporos Int., 2005. **16**(7): p. 713-716.

71. Manson, J.E., et al. *Vitamin D Deficiency — Is There Really a Pandemic?*. New England Journal of Medicine, 2016. **375**(19): p. 1817-1820.

72 . Padovani, R.M., et al. *Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais*. Rev. Nutr., Campinas, 2006. **19**(6): p. 741-760.

73. Institute of Medicine. *Dietary reference intakes: calcium and vitamin D*. Washington, DC: National Academies Press, 2011.

74. Orwoll. E., et al. *Vitamin D deficiency in older men*. J Clin Endocrinol Metab., 2009. **94**(4): p. 1214-1222.

75. Maeda, S.S., et al. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D*. Arq Bras Endocrinol Metab., 2014. **54**(5): p. 411-433.

76. Daly, R.M., et al. *Prevalence of vitamin D deficiency and its determinants in Australian adults aged 25 years and older: a national, population-based study*. Clinical Endocrinology, 2012. **77**: p: 26-35.

77. Peters, B.S.E., et al. *Prevalence of Vitamin D Insufficiency in Brazilian Adolescents*. Ann Nutr Metab., 2009. **54**(1): p. 15-21.

78. Arabe, A., Rassi, R.L., Fuleihan, G.E.H. *Hypovitaminosis D in developing countries — prevalence, risk factors and outcomes*. Nature Reviews Endocrinology. 2010. **6**(10): p. 550-561.

79. Scalco, R., et al. *High prevalence of hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in elders living in nonprofit homes in South Brazil*. Endocr., 2008. **33**(1): p. 95-100.

80. Tilg, H., Moschen, A.R. *Evolution of Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Multiple Parallel Hits Hypothesis*. Hepatology, 2010. **52**(5): p.1836-1846.

81. Eliades, M., et al. *Meta-analysis: vitamin D and non-alcoholic fatty liver disease*. *Aliment Pharmacol Ther.*, 2013. **38**(3): p. 246-254.
82. Bouillon R., Okamura W.H., Norman A.W. *Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system*. *Endocr Rev.*, 1995. **16**(2): p. 200-257.
83. Bouillon, R., et al. *Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice*. *Endocr Rev.*, 2008. **29**(6): p. 726-776.
84. Castro, L.C.G. *O sistema endocrinológico vitamina D*. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, 2011. **55**(8): p. 566-575.
85. Rochel, N., et al. *The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand*. *Molecular Cell*, 2000. **5**(1): p. 173-179.
86. Huhtakangas, J.A., et al. *The vitamin D receptor is present in caveolae-enriched plasma membranes and binds 1,25(OH)₂-vitamin D₃ in vivo and in vitro*. *Mol Endocrinol.*, 2004. **18**(11): p. 2660-2671.
87. Maestro, B., et al. *Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter*. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2003. **84**(2): p. 223-230.
88. Chun, R.F., et al. *Impact of vitaminD on immune function: lessons learned from genome-wide analysis*. *Front Physiol.*, 2014. **5**(151): p. 1-15.
89. Vaidya A. *Vitamin D and cardio-metabolic disease*. *Metabolism.*, 2013. **62**(12): p. 1697-1699.
90. Yamauchi T., et al. *Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions*. *Nat Med.*, 2007. **13**(3): p. 332-339.
91. Iwabu, M., et al. *Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1alpha and mitochondria by Ca²⁺ and AMPK/SIRT1*. *Nature*, 2010. **464**(7293): p. 1313- 1319.
92. Purushotham, A., et al. *Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation*. *Cell Metab.*, 2009. **9**(4): p. 327-338.
93. Zierold C., Mings, J.A, DeLuca, H.F. *Regulation of 25-hydroxyvitamin D₃-24-hydroxylase mRNA by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and parathyroid hormone*. *J Cell Biochem.*, 2003. **88**(2): p. 234-237.
94. Küçükazman, M., et al. *The association of vitamin D deficiency with nonalcoholic fatty liver disease*. *CLINICS*, 2014. **69**(8): p. 542-546.

95. Dasarathy J., et al. *Hypovitaminosis D is associated with increased whole body fat mass and greater severity of non alcoholic fatty liver disease*. Liver Int., 2014. **34**(6): p.118-127.
96. Hao, Y., et al. *Serum vitamin D is associated with non-alcoholic fatty liver disease in Chinese males with normal weight and liver enzymes*. Acta Pharmacologica Sinica, 2014. **35**(9): p. 1150-1156.
97. Chung, G.E., et al. *The serum vitamin D level is inversely correlated with nonalcoholic fatty liver disease*. Clin Mol Hepatol., 2016. **22**(1): p. 146-151.
98. Souza, W.N., et al. *Association between 25-hydroxyvitamin D and inflammatory biomarker levels in a cross-sectional population-based study, São Paulo, Brazil*. Nutr Res., 2016. **36**(1): p.1-8
99. Bril, F., et al. *Relationship of vitamin D with insulin resistance and disease severity in non-alcoholic steatohepatitis*. Journal of Hepatology, 2015. **62**(2): p. 405-411.
100. Lu, Z., et al. *Serum vitamin D levels are inversely related with non-alcoholic fatty liver disease independent of visceral obesity in Chinese postmenopausal women*. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2015. **42**(2): p. 139-145.
101. Hourigan, S.K., et al. *The Relationship between Vitamin D Status and Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Children*. J Pediatr Gastroenterol Nutr., 2015. **60**(3): p. 396-404.
102. Wang, X., et al. *Association between vitamin D and non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: results from a meta-analysis*, 2015. **8**(10): p. 17221-17234.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo primário

Avaliar os níveis séricos de vitamina D em pacientes com DHGNA e investigar a associação de hipovitaminose D com a gravidade da doença.

2.2 – Objetivos secundários

- Verificar a associação entre os níveis séricos de vitamina D e a presença de comorbidades clínicas em pacientes com DHGNA;
- Verificar a associação entre os níveis séricos de vitamina D e os parâmetros de atividade da DHGNA (bioquímico e histológico);
- Relacionar níveis séricos de vitamina D e resistência à insulina por meio do parâmetro bioquímico HOMA-IR em pacientes com DHGNA.

3 – MÉTODOS

3.1 – Delineamento do estudo

Trata-se de estudo observacional, de delineamento transversal com inclusão prospectiva de pacientes, desenvolvido no Ambulatório de DHGNA do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, Belo Horizonte, Brasil.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Anexo 1), CAAE: 35869914.4.0000.5149, todos os pacientes foram convidados a participar da pesquisa no momento da consulta e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A), após terem sido esclarecidos sobre o projeto.

3.2 – Pacientes

Foram incluídos 139 pacientes com DHGNA que estavam em acompanhamento no ambulatório especializado do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, que satisfizeram os critérios de inclusão deste estudo.

3.3 – Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão:

- 1- Esteato-hepatite ou esteatose confirmada por biopsia hepática e/ou US abdominal
- 2- Ausência de outras hepatopatias associadas, a saber:
 - hepatopatia alcoólica – caracterizada pela ingestão >20g/dia de etanol para homens e >10g/dia de etanol para mulheres no período de um ano;

- hepatite B e C – caracterizadas pela presença dos marcadores antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) e anticorpo contra o vírus da hepatite C (anti-HCV), respectivamente;
- outras hepatopatias: autoimunes, doença de Wilson, deficiência de alfa1-antitripsina, hemocromatose hereditária – caracterizadas pelos marcadores específicos.

3- Ausência de história prévia de cirurgia de *bypass* gástrico ou *bypass* jejuno ileal.

4- Ausência de uso nos últimos seis meses de droga que sabidamente pode causar esteatose hepática.

5- Ausência de contato com petroquímicos.

6- Idade igual ou superior a 18 anos.

7- Concordância em participar do estudo e assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

Critérios de exclusão

1- Desistência em participar do estudo.

2- Suplementação prévia de Vitamina D.

3.4 – Coleta de dados

3.4.1 – Avaliação clínico-laboratorial

Todos os pacientes foram avaliados clinicamente. Foi investigado o histórico de ingestão de bebidas alcoólicas. Posteriormente, foram solicitados exames laboratoriais segundo a rotina do ambulatório de DHGNA: colesterol total e frações, triglicerídeos, glicemia e insulina de jejum, AST, ALT, FA, GGT, vitamina D, ácido úrico, bilirrubinas total e frações, hormônio estimulante da tireóide (TSH), albumina, creatinina, ferro, ferritina, índice de saturação da transferrina, potássio e hemograma completo. Segundo protocolo de rotina do serviço, foram solicitados ainda: HBsAg, anti-HCV, anticorpo contra o antígeno do core do vírus da hepatite B (anti-HBc) dosagem sérica de ceruloplasmina,

eletroforese de proteínas, alfa-1-antitripsina e pesquisa no soro dos seguintes auto-anticorpos: anticorpo anti-nuclear (FAN), anti-músculo liso e anti-mitocôndria.

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

A SM é definida pela presença de 3 ou mais dos seguintes critérios: aumento da circunferência da cintura (igual ou superior a 94 cm para homem e igual ou superior a 80 cm para mulher, pontos de corte sugeridos pela *International Diabetes Federation* (IDF)⁽¹⁾, aumento da glicose em jejum (igual ou superior a 100 mg/dL), hipertrigliceridemia (igual ou superior a 150 mg/dL ou em tratamento farmacológico), baixa concentração de high density lipoprotein (HDL) (inferior a 40mg/dL para homens e inferior a 50mg/dL para mulheres) e HAS (superior a 130 mmHg sistólica ou superior a 85 mmHg diastólica ou em tratamento farmacológico)^(2,3).

3.4.2 – Análise de vitamina D e marcadores metabólicos

Os exames de vitamina D eram encaminhados a um laboratório, em São Paulo, para análise, sendo realizado o ensaio clínico por quimioluminescência.

¹ International Diabetes Federation. *The IDF consensus worldwide definition of the Metabolic Syndrome*. 2006. p: 1-24.

² Cleeman, J.I. *Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III)*. JAMA, 2001. **285**(19): p. 2486–2497.

³ Huang, P.L. *A comprehensive definition for metabolic syndrome*. Dis Model Mech, 2009. **2**(5-6): p. 231–237.

Estudos mostram que, entre os ensaios disponíveis, o de maior acurácia é observado na cromatografia líquida associada à espectrofotometria de massa - *liquid chromatography-tandem mass spectrophotometry* (LC-MS /MS), a qual permite mensurar separadamente 25(OH)D2 e 25(OH)D3, entretanto é um método de alto custo e demorado e não acessível a todos os laboratórios. Um teste substituto pode ser a cromatografia líquida de alta pressão - *high-performance liquid chromatography* (HPLC), porém ainda dispendioso⁽⁴⁾.

O ensaio de quimioluminescência coespecífico para 25(OH)D2 e 25(OH)D3, utilizado no presente estudo, fornece 25(OH)D total⁽⁵⁾, sendo mais acessível. No atual estudo, as concentrações séricas abaixo de 20 ng/mL são classificadas como deficiência, entre 20 e 29 ng/mL como insuficiência e entre 30 e 100 ng/mL como suficiência.

A RI foi calculada por meio do índice HOMA-IR (Fórmula 1). A partir de um estudo que incluiu 1854 adultos, sugere-se valores de referência para HOMA-IR, sendo HOMA-IR<2,60 a faixa de normalidade, HOMA-IR entre 2,60 a 3,80 a faixa de limite superior sem considerar os pacientes com presença de RI e HOMA-IR>3,80 como faixa alta apresentando clara relação com RI⁽⁶⁾. Enquanto o LAP (Fórmula 2) foi utilizado para refletir o acúmulo de gordura em adultos, sendo usado para fornecer informações prognósticas sobre o risco de SM, DM tipo 2, DHGNA, doença cardiovascular e risco de mortalidade em vários sub-grupos⁽⁷⁾.

⁴ Vogeser, M. *Quantification of circulating 25-hydroxyvitamin D by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2010. **121**: p. 565-573.

⁵ Roth, H.J. et al. *Accuracy and clinical implications of seven 25-hydroxyvitamin D methods compared with liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a reference*. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008. **45**(2): p. 153-159.

⁶ Qu, H.Q., et al. *The Definition of Insulin Resistance Using HOMA-IR for Americans of Mexican Descent Using Machine Learning*. *PLoS One*, 2011. **6**(6): p. e21041.

⁷ Wehr, E., et al. *The Lipid Accumulation Product Is Associated with Impaired Glucose Tolerance in PCOS Women*. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2011. **96** (6): p. 986-990.

Fórmula 1: Cálculo de HOMA-IR

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

Fórmula 2: Cálculo de LAP

$$\begin{aligned} \text{LAP (homens): } & (\text{DC [cm]} - 65) \times (\text{triglicerídeos [mmol/L]}) \\ \text{LAP (mulhres): } & (\text{DC [cm]} - 58) \times (\text{triglicerídeos [mmol/L]}) \end{aligned}$$

3.4.3 – Avaliação histológica

A indicação de biópsia hepática foi individualizada atendendo a critérios clínicos e não com finalidade de pesquisa. As biópsias foram revistas por patologista especialista em doenças do fígado. Foram selecionados e incluídos pacientes com EHNA ou esteatose. As alterações histopatológicas foram classificadas de acordo com os critérios de Kleiner e col⁽⁸⁾, a saber: esteatose (0 a 3 pontos); inflamação lobular (0 a 3 pontos); e balonização de hepatócitos (0 a 2 pontos). A soma dos resultados forneceu o escore de atividade da doença (NAS): ≤ 3 , exclusão de EHNA; igual a 4, provável EHNA; e ≥ 5 , diagnóstico definitivo de EHNA. O detalhamento do escore NAS encontra-se descrito no Quadro 3.

⁸ Kleiner, D.E., et al. *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2005. 41(6): p. 1313-1321.

Quadro 3 – Critério NAS para classificação de DHGNA

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

A fibrose hepática foi avaliada pela classificação Kleiner e col⁽⁸⁾, a saber: 0 = ausência de fibrose, 1 = perisinusoidal ou periportal, 1A = perisinusoidal leve, em zona 3, 1B = perisinusoidal moderada, em zona 3, 1C = portal/ periportal, 2 = perisinusoidal e portal/periportal, 3 = septos fibrosos, 4 = cirrose.

3.4.4 – NAFLD score

Foi calculado o *NAFLD score* para todos os pacientes. Trata-se de método não invasivo para determinação de fibrose hepática avançada em pacientes com DHGNA. São utilizadas para o cálculo variáveis bioquímicas e clínicas: idade, IMC, DM (classificado como glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL ou tratamento com medicamento antidiabético), valores séricos de AST, ALT, plaquetas e albumina⁽⁹⁾.

⁸ Kleiner, D.E., et al. *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2005. **41**(6): p. 1313-1321.

⁹ Angulo, P., et al. *The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD*. Hepatology, 2007. **45**(4): p. 846-854.

Valores superiores a 0,675 identificam presença de fibrose avançada (F3-F4), valores entre -1,455 e 0,675 referem a *score* indeterminado e valores inferiores a -1,455 identificam ausência de fibrose ou ausência de fibrose significativa (F0-F2). Esse *score* foi utilizado em associação à avaliação histológica para se avaliar presença de fibrose nos pacientes.

Fórmula 3: Cálculo de *NAFLD score*

$$\text{NAFLD fibrose score} = -1,675 + (0,037 \times \text{idade (em anos)}) + 0,094 \times (\text{IMC(kg/m}^2\text{)} + (1,13 \times \text{diabetes (sim=1, não=0)}) + (0,99 \times \text{razão AST/ALT}) - (0,013 \times \text{plaquetas (10}^9\text{/L)}) - (0,66 \times \text{albumina (g/dL)}).$$

3.4.5 – *BARD score*

BARD score foi calculado para todos os pacientes. É um sistema de pontuação simples projetado para identificar pacientes com DHGNA com baixo risco de doença avançada. Esse método não invasivo combina três variáveis: IMC, relação AST/ALT e a presença de DM (IMC ≥ 28 = 1 ponto, Relação AST/ALT $\geq 0,8$ = 2 pontos, DM = 1 ponto) para gerar um resultado de 0 a 4.

No estudo original, o resultado de 2 a 4 mostra associação com fibrose avançada⁽¹⁰⁾.

Fórmula 4: Cálculo de *BARD score*

$$\text{BARD score} = (\text{IMC} \geq 28 = 1 \text{ ponto}) + (\text{relação AST/ALT} \geq 0.8) = 2 \text{ pontos} + (\text{DM tipo 2} = 1 \text{ ponto}).$$

¹⁰ Harrison, S.A. et al. *Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease*. Gut, 2008. **57**(10): p. 1441–1447.

3.4.6 – Avaliação do estado nutricional

Para avaliação antropométrica, foram incluídas as medidas de peso (Kg), estatura (cm), circunferência da cintura (cm) e cálculo do IMC (peso (Kg)/altura (m)²). A aferição do peso foi realizada em balança Filizzola®, mecânica, capacidade de 150 Kg, com divisões de 100g, com o indivíduo em posição ereta, com o mínimo de roupa possível ou com roupas leves. A estatura foi aferida por meio do estadiômetro da própria balança Filizzola®, com o indivíduo em posição ereta, de costas para a balança, olhando para frente. A medição da circunferência da cintura ocorreu por intermédio de técnica padronizada, utilizando-se fita antropométrica, de dois metros, inelástica, tendo como parâmetro o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca⁽¹¹⁾.

Foram utilizados os pontos de corte de ≥ 94 cm (homens) e ≥ 80 cm (mulheres) para o diagnóstico de obesidade central, a partir da mensuração da circunferência da cintura.

Os pacientes foram classificados conforme critério da Organização Mundial de Saúde para IMC⁽¹²⁾, descrito no Quadro 4.

Quadro 4 – Classificação de IMC

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

Fonte: OMS, 1995.

¹¹ Nishida, C., Ko, G.T., Kumanyika, S. *Body fat distribution and noncommunicable diseases in populations: overview of the 2008 WHO Expert Consultation on Waist Circumference and Waist-Hip Ratio. Eur J Clin Nutr.*, 2010. **64**(1): p. 2-5.

¹² *Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organ Tech Rep Ser*, 1995. **854**: p. 1-452.

3.5 – Análise estatística

Ao término do estudo, os dados foram analisados empregando-se o software R (versão 3.3.0). O banco de dados era formado por 27 variáveis medidas em 139 pacientes, sendo 26 variáveis explicativas e 1 variável representando a resposta de interesse: nível de vitamina D. Na descrição das variáveis qualitativas foram utilizadas as frequências absolutas e relativas, enquanto que para descrever as variáveis quantitativas foram utilizadas medidas de posição, tendência central e dispersão.

A influência das variáveis explicativas sobre o nível de vitamina D foi avaliada em duas situações distintas, cada uma considerando um ponto de corte: 20 ng/mL e 30 ng/mL na amostra. A influência das variáveis explicativas sobre a ocorrência de níveis alterados de vitamina D foi avaliada inicialmente a partir de uma análise univariada via análise de regressão logística. Através da análise univariada foi realizada uma pré-seleção dos potenciais preditores da ocorrência de níveis alterados de vitamina D, sendo considerado nível de significância igual a 25%.

As variáveis selecionadas na análise univariada foram utilizadas nos modelos multivariados de regressão logística e nestes modelos foi aplicado o método Backward para seleção final das variáveis. O método Backward é o procedimento de retirar, por vez, a variável de maior valor-p, repetindo o procedimento até que restem no modelo somente variáveis significativas. Para o método Backward foi adotado um nível de 5% de significância. Para avaliar a qualidade do ajuste da regressão logística utilizou-se o teste de Hosmer-Lemeshow e o pseudo R^2 de Nagelkerke.

4 – ARTIGO

ASSOCIATION OF SERUM LEVELS OF VITAMIN D AND NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Jeniffer Danielle Machado Dutra¹, Quelson Coelho Lisboa¹, Silvia Marinho Ferrola¹, Carolina Martinelli Mascarenhas de Lucena Carvalho^{II}, Camila Costa Mazoni Mendes^{II}, Cláudia Alves Couto^I

^I Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais. ^{II} Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

Correspondence: Jeniffer Danielle Machado Dutra (jeniffermdutra@hotmail.com); Cláudia Alves Couto (cacouto@uol.com.br)
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: cacouto@medicina.ufmg.br

Authors' emails:

jeniffermdutra@hotmail.com; quelsoncoelho@gmail.com;
silviaferolla@hotmail.com; carolmartinelli1@hotmail.com;
caca_11_2006@hotmail.com; cacouto@uol.com.br.

ABSTRACT

Introduction: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common cause of chronic liver disease, especially in Western countries. The incidence and severity of NAFLD have been associated with hypovitaminosis D. We aimed to investigate the prevalence of hypovitaminosis D and its association with the severity of the disease and the presence of comorbidities. **Methods:** A cross-sectional study included 139 adults with NAFLD and dosage of 25-hydroxyvitamin D. Inclusion criteria: diagnosis of NAFLD by abdominal ultrasound and/or liver biopsy. Patients with a previous or current use of vitamin D supplement were not included. Levels of vitamin D <20 ng/mL were classified as a deficiency and between 20-29 ng/mL as an insufficiency. Disease's severity was evaluated by NAFLD and BARD scores and histological features according to the NASH Clinical Research Network System. **Results:** The mean age of the population was 56 ys (range 18-82 ys), most patients were female (83%), 72% had hypertension, 88% were dyslipidemic, 46% had diabetes, 98% had central obesity and 82% had metabolic syndrome. The prevalence of hypovitaminosis D was 78% in the studied population. Most patients (85%) were classified as absent or indeterminate fibrosis by NAFLD score and 24% classified as having a low risk of developing the advanced disease by BARD score. At the cut-off point for vitamin D of 20 ng/mL, there was no significant difference in variables studied. At the cut-off point for vitamin D of 30 ng/mL, low levels of vitamin D were associated with the absence of diabetes ($p=0.011$) and with BARD score (2-4) ($p = 0.016$). **Conclusion:** Most patients with NAFLD had hypovitaminosis D and low vitamin D levels were related to the absence of diabetes and disease severity by the BARD score.

Key words: nonalcoholic fatty liver disease, vitamin D deficiency, 25(OH)D.

INTRODUCTION

The definition of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) requires evidence of hepatic steatosis (presence of 5% or more macrovesicular steatosis in hepatocytes), by imaging or histology, and the absence of other causes such as excessive alcohol consumption, use of medications that causes steatosis or hereditary problems. In most patients, NAFLD is associated with other metabolic factors such as obesity, insulin resistance (IR), diabetes mellitus (DM), metabolic syndrome (MS) and dyslipidemia⁽¹⁻⁴⁾.

Non-alcoholic fatty liver disease is divided into two main subtypes: non-alcoholic hepatic steatosis (simple steatosis) non-progressive form of NAFLD, which rarely leads to the development of cirrhosis, and non-alcoholic steatohepatitis (NASH), a progressive form of NAFLD, which causes cirrhosis, hepatocellular carcinoma and is related to hepatic mortality⁽⁵⁾.

NAFLD is the most common cause of chronic liver disease, especially in Western countries. Its worldwide incidence continues to grow following the obesity epidemic^(5,6). An understanding of the pathogenesis of NASH is still evolving but current evidence suggests the participation of multiple metabolic factors. In the past years, the association between serum levels of vitamin D and NAFLD has been studied⁽⁷⁾.

The prevalence of vitamin D deficiency in the world population has become a concern due to the role of vitamin D in important physiological processes including immunomodulating, anti-inflammatory action, anti-fibrotic, role in calcium metabolism and muscle contraction, glucose homeostasis, blood pressure and lipid profile⁽⁸⁻¹⁰⁾. In this context, NAFLD has been associated with hypovitaminosis D. One possible mechanism for this association is the increase in insulin resistance that is important for the pathophysiology of NASH. This association has as a possible explanation the expression of both 1-alpha-hydroxylase and the vitamin D receptor (VDR) in β -pancreatic cells, existing a

relationship between low levels of vitamin D and impaired pancreatic β -cell function^(7,9).

Although there are some published studies suggesting an association between NAFLD and hypovitaminosis D, other studies, including an epidemiological study, report against this association. In addition, hypovitaminosis D is also an endemic disease nowadays, even in tropical countries, and abnormal serum levels of vitamin D and its association with pathological conditions are not clear. In this context, the present study aims to evaluate serum levels of vitamin D and correlate them with clinical parameters of the severity of NAFLD and the presence of comorbidities, possibly contributing to the better pathophysiological knowledge of NAFLD.

METHODS

Study Population

A cross-sectional study included 139 patients with NAFLD in the Hepatology Clinic, University Hospital, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil. This institution is a reference center of the Brazilian public health system. The study was approved by the local ethics committee (CAAE: 35869914.4.0000.5149), and all patients signed an informed consent form at the time of screening for the study.

The inclusion criteria comprised: diagnosis of NAFLD according to the American Gastroenterological Association (AGA) criteria⁽¹⁾, 18 years or older and 25 (OH) blood test. AGA criteria include: steatosis on abdominal ultrasound (US) and/or on liver biopsy (performed according to clinical judgment), exclusion of other causes of liver disease (namely alcohol intake >20g/day, markers of chronic B and C hepatitis virus infections, auto-immune hepatic disorders, Wilson disease, hemochromatosis, and alpha-1-antitripsin deficiency), no use of steatogenic medications within the past 6 months, no exposure to hepatotoxins, and no

history of bariatric surgery ⁽¹⁾. Alcohol use was addressed at least in 3 different occasions, by 2 doctors and also by a dietician during the nutritional interview.

Clinical and laboratorial investigation

All patients were clinically evaluated. The alcohol intake history was investigated. Subsequently, laboratory tests were ordered following the routine of the NADFLD clinic: total cholesterol and fractions, triglycerides, blood glucose and fasting insulin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), vitamin D, uric acid, total and fractioned bilirubin, thyroid stimulating hormone (TSH), albumin, creatinine, iron, ferritin, transferrin saturation index, potassium and complete blood count. According to the protocol also were ordered: hepatitis B surface antigen (HBsAg), anti-hepatitis C virus (anti-HCV) antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc), serum ceruloplasmin, protein electrophoresis, alpha-1-antitrypsin and tests of the following autoantibodies: anti-nuclear, anti-smooth muscle and anti-mitochondrial.

All tests were performed at the Laboratory of Hospital das Clínicas of UFMG, with the patient fasting for at least 12 hours. The results were compared to their reference values and used to describe the clinical characteristics and the presence of MS of studied patients.

MS is defined as the presence of three or more of the following criteria: increased waist circumference (WC) (≥ 94 cm for men and ≥ 80 cm for women, cut-off points suggested by the International Diabetes Federation (IDF))⁽¹¹⁾, increased fasting glucose (equal to or above 100 mg/dL), hypertriglyceridemia (greater than or equal to 150 mg/dL or drug treatment), low concentration of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol (less than 40 mg/dL for men and less than 50 mg/dL for women) and hypertension (greater than 130 mmHg systolic or greater than 85 mmHg diastolic or drug treatment)^(12,13).

Vitamin D analysis and metabolic markers

Vitamin D tests were performed by chemiluminescence. The co-specific chemiluminescence test for 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃, used in the present study, provides total 25(OH)D⁽¹⁴⁾ and it is the most accessible clinical test. In the current study, serum concentrations below 20 ng/mL are classified as a deficiency and between 20 and 29 ng/mL as an insufficiency.

IR was calculated by the HOMA-IR index (serum insulin (μU/mL) × fasting glucose (mmol/L) / 22.5)⁽¹⁵⁾ and the accumulation of lipids in adults by the lipid accumulation product (LAP) (for men = (WC [cm] – 65) x (triglycerides [mmol/L]) and for women = (WC [cm] – 58) x (triglycerides [mmol/L]))⁽¹⁶⁾.

Histological evaluation

The indication of liver biopsy was individualized attending clinical criteria and not with the purpose of the study. Biopsies were reviewed by a pathologist expert in liver disease. Patients without simple steatosis or NASH were excluded. The histopathological changes were classified according to the criteria of Kleiner *et al*⁽¹⁷⁾: steatosis (0 to 3); lobular inflammation (0 to 3); and ballooning degeneration of hepatocytes (0 to 2 points). The sum of the results provided the activity score of disease (NAS): ≤3, NASH exclusion; equal to 4, probable NASH; and ≥5, definitive diagnosis of NASH. Liver fibrosis was evaluated by the criteria of Kleiner *et al*⁽¹⁷⁾: 0 = absent fibrosis, 1 = perisinusoidal or periportal, 1A = mild, zone 3, perisinusoidal, 1B = moderate, zone 3, perisinusoidal, 1C = portal/periportal, 2 = perisinusoidal and portal/periportal, 3 = bridging fibrosis and 4 = cirrhosis.

NAFLD score

NAFLD score was calculated for all patients. It is a non-invasive method for determining advanced liver fibrosis in patients with NAFLD. Biochemical and clinical variables are used to calculate it: age, body mass index (BMI), diabetes

(classified as fasting glucose ≥ 126 mg/dL or treatment with antidiabetic medication), serum levels of AST, ALT, platelets and albumin ($NAFLD\ score = -1.675 + 0.037 \times age\ (years) + 0.094 \times BMI\ (kg/m^2) + 1.13 \times impaired\ fasting\ glucose\ (IFG)/diabetes\ (yes = 1, no = 0) + 0.99 \times AST/ALT\ ratio - 0.013 \times platelet\ count\ (\times 10^9/L) - 0.66 \times albumin\ (g/dL)$)⁽¹⁸⁾.

Values greater than 0.675 indicate the presence of advanced fibrosis (F3-F4), values between -1.455 and 0.675 refer to indeterminate score and values lower than -1.455 identify the absence of fibrosis or absence of significant fibrosis (F0-F2). This score was used in addition to histological evaluation to assess fibrosis in patients.

BARD score

BARD score was calculated for all patients. It's a simple scoring system designed to identify patients with NAFLD with low risk of advanced disease. This noninvasive method combines three variables: BMI, relation AST/ALT and the presence of DM (BMI $\geq 28 = 1$ point, AST/ALT relation $\geq 0,8 = 2$ points, DM = 1 point) to generate a score of 0 to 4 ($BARD\ score = (BMI \geq 28 = 1\ point) + (AST/ALT\ relation \geq 0.8) = 2\ points + (Type\ 2\ DM = 1\ point)$). In the original study, the result of 2 to 4 shows association with advanced fibrosis⁽¹⁹⁾.

Nutritional status

For anthropometric evaluation were included weight (Kg), height (cm), WC (cm) and BMI (weight (Kg)/height (m^2)) calculation. The weight measurement was performed in Filizzola® mechanical scale, the capacity of 150 Kg, with divisions of 100g, with the individual in an upright position with the least amount of clothes or light clothing. Height was measured through Stadiometer's Filizzola® scale with the individual upright, with back to the scales, looking forward. The measurement of the WC was given by a standard technique, using anthropometric tape, two meters, inelastic, having as parameter the midpoint between the last rib and the iliac crest⁽²⁰⁾.

The cutoff points used were ≥ 94 cm (men) and ≥ 80 cm (women) for the diagnosis of central obesity, from the measurement of WC. Patients were classified according to the criteria of the World Health Organization for BMI⁽²¹⁾. For diagnosis of MS, the criteria suggested by IDF were used.

Statistical analysis

At the end of the study, the data were analyzed using software R (version 3.3.0). The database consisted of 27 variables measured in 139 patients, 26 explanatory variables and 1 variable representing the outcome of interest: vitamin D level. In the description of the qualitative variables, the absolute and relative frequencies were used. Measures of position, central tendency, and dispersion were used to describe the quantitative variables.

The influence of the explanatory variables on the level of vitamin D was evaluated in two different situations, each considering a cutoff point: 20 ng/mL and 30 ng/mL in the sample. The influence of the explanatory variables on the occurrence of altered levels of vitamin D was evaluated initially from a univariate analysis through logistic regression analysis. Through the univariate analysis, a pre-selection of the potential predictors of the occurrence of altered levels of vitamin D was performed and was considered the level of significance equal to 0.25. The variables selected in the univariate analysis were used in the multivariate logistic regression models and in these models the Backward method was applied for final selection of the variables. The Backward method is the procedure to remove the variable of greatest p-value, repeating the procedure until only significant variables remain in the model. For the Backward method, a level of 0.05 of significance was adopted. The Hosmer-Lemeshow test and Nagelkerke pseudo R^2 test were used to assess the quality of the logistic regression fit.

RESULTS

The study involved 139 adults with NAFLD diagnosis and with blood levels of 25-hydroxyvitamin D measured, analyzed by chemiluminescence. Two cutoffs were evaluated for serum levels of 25-hydroxyvitamin D: levels of 20 ng/mL (≥ 20 ng/mL and < 20 ng/mL) and levels of 30 ng/mL (≥ 30 ng/mL and < 30 ng/mL). Vitamin D was less than or equal to 20 ng/mL in 35% of patients and was less than 30 ng/mL in 78% of patients. The mean vitamin D level was 24.28 ng/mL.

The mean age of the population was 56 years (range 18-82). Seventy-one patients were female (83%). The mean weight was 82 Kg, mean height of the patients was 1.58 m, mean BMI was 32 ± 5.2 Kg/m² and the mean WC was 106 cm. There was no difference in the mean sex, weight, height, BMI, and WC between the groups (Table 1).

Table 1: Demographic and nutritional characteristics of the individuals with NAFLD and serum level of vitamin D.

Variables	Vitamin D ≥ 20 ng/mL (n=90)	Vitamin D < 20 ng/mL (n=49)	P	Vitamin D ≥ 30 ng/mL (n=30)	Vitamin D < 30 ng/mL (n=109)	P
Sex (n/%)			0.111 ⁽¹⁾			0.655 ⁽¹⁾
Female	71 (79)	44 (90)		24 (80)	91 (84)	
Male	19 (21)	5 (10)		6 (20)	18 (16)	
Age (years)	56 (1.11)	57 (1.98)	0.963 ⁽¹⁾	56 (1.86)	56 (1.17)	0.949 ⁽¹⁾
Weight (Kg)	83 (1.86)	79 (2.32)	0.118 ⁽¹⁾	81 (3.58)	82 (1.59)	0.700 ⁽¹⁾
Height (m)	1.59 (0.01)	1.57 (0.01)	0.190 ⁽¹⁾	1.57 (0.02)	1.59 (0.01)	0.487 ⁽¹⁾
BMI (Kg/m ²)	33 (0.55)	32 (0.74)	0.307 ⁽¹⁾	32 (1.13)	32 (0.47)	0.922 ⁽¹⁾
WC (cm)	107 (1.31)	104 (1.66)	0.223 ⁽¹⁾	106 (2.76)	106 (1.08)	0.879 ⁽¹⁾

NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease; BMI: body mass index; WC: waist circumference. Categorical values are number (n) and percentage (%). Continuous variables mean \pm standard error (SE).¹Univariate logistic regression.

Most patients were hypertensive (72%), dyslipidemic (88%), non-diabetic (54%) and were classified as having central obesity (98%) and MS (82%). The comparison between the baseline clinical data of the groups regarding the metabolic characteristics showed no differences (Table 2).

Table 2 - Association between serum levels of vitamin D and clinical characteristics.

Variables	Vitamin D ≥ 20 ng/mL (n=90)		Vitamin D < 20 ng/mL (n=49)		P	Vitamin D ≥ 30 ng/mL (n=30)		Vitamin D < 30 ng/mL (n=109)		P
	n	%	n	%		n	%	n	%	
Hypertension	65	72	35	71	0.921 ⁽¹⁾	21	70	79	72	0.789 ⁽¹⁾
Dyslipidemia	79	88	44	90	0.722 ⁽¹⁾	26	87	97	89	0.724 ⁽¹⁾
Central obesity	87	98	48	98	0.937 ⁽¹⁾	27	93	108	99	0.094 ⁽¹⁾
MS	74	83	39	80	0.604 ⁽¹⁾	25	83	88	82	0.816 ⁽¹⁾
DM	44	49	20	41	0.362 ⁽¹⁾	18	60	46	42	0.087 ⁽¹⁾

MS: metabolic syndrome; DM: diabetes mellitus. Categorical values are number (n) and percentage (%).¹Univariate logistic regression.

At baseline, the median glycemia was 101 mg/dL (range 73-318 mg/dL), the mean uric acid was 5.35 mg/dL with standard deviation of 1.53 and mean ferritin was 127.20 ng/mL. The hepatic biochemical parameters showed that the mean AST (x reference value) was 1.14, mean ALT (x reference value) was 0.78 with standard deviation of 0.86, median ALP (x reference value) was 0.75 (range 0.37-2.29), mean albumin was 4.25 g/dL with standard deviation of 0.35 and median platelets was 221.000/mm³ (range 67.000-474.000/mm³). The comparison between the baseline clinical data of the groups regarding biochemical characteristics showed no differences (Table 3).

Table 3 - Association between serum levels of vitamin D and biochemical characteristics.

Variables	Vitamin D ≥ 20 ng/mL (n=90)		Vitamin D < 20 ng/mL (n=49)		P	Vitamin D ≥ 30 ng/mL (n=30)		Vitamin D < 30 ng/mL (n=109)		P
	Mean	SE	Mean	SE		Mean	SE	Mean	SE	
Glycemia (mg/dL)	119.4	(5.13)	119.4	(7.66)	0.991 ⁽¹⁾	122.5	(9.1)	118.6	(4.85)	0.700 ⁽¹⁾
AST (x Ref.value)	0.9	(0.08)	1.5	(0.64)	0.368 ⁽¹⁾	1.1	(0.18)	1.2	(0.29)	0.857 ⁽¹⁾
ALT (x Ref.value)	0.7	(0.06)	0.9	(0.17)	0.328 ⁽¹⁾	0.8	(0.13)	0.8	(0.09)	0.793 ⁽¹⁾
ALP (x Ref.value)	0.8	(0.03)	0.9	(0.06)	0.18 ⁽¹⁾	0.7	(0.04)	0.8	(0.03)	0.163 ⁽¹⁾
Gamma GT (x Ref.value)	2.2	(0.30)	2.1	(0.25)	0.774 ⁽¹⁾	2.1	(0.38)	2.2	(0.25)	0.892 ⁽¹⁾
Uric acid (mg/dL)	5.5	(0.16)	5.1	(0.21)	0.177 ⁽¹⁾	5.6	(0.31)	5.3	(0.14)	0.301 ⁽¹⁾
Album (g/dL)	4.3	(0.03)	4.2	(0.06)	0.257 ⁽¹⁾	4.3	(0.08)	4.2	(0.03)	0.526 ⁽¹⁾
Platelets (x 10 ³ /mm ³)	22.3	(0.79)	24.1	(1.11)	0.182 ⁽¹⁾	22.9	(1.43)	22.9	(0.73)	0.979 ⁽¹⁾
Ferritin (ng/mL)	13.6	(1.32)	11.2	(1.74)	0.281 ⁽¹⁾	15.2	(2.62)	12.1	(1.13)	0.227 ⁽¹⁾

AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase; ALP: alkaline phosphatase; Gamma GT: gamma-glutamyl transpeptidase. Continuous variables mean ± standard error (SE).¹Univariate logistic regression.

For liver biopsy, 59 patients were eligible. Most patients (66%) had NASH. However, 19% of patients presented advanced fibrosis identified by histology (classification by Kleiner *et al.* $>$ or $=$ 3). It was observed that having inflammation (score 2 and 3) is a protective factor, in other words, it decreases the chance of occurrence of altered levels of vitamin D ($p=0.039$). The proportion of patients having NASH and liver fibrosis was similar between the groups (Table 4).

Table 4 - Association between serum levels of vitamin D and severity of NAFLD by Histology.

Variables	Vitamin D \geq 20 ng/mL (n=39)		Vitamin D $<$ 20 ng/mL (n=20)		P	Vitamin D \geq 30 ng/mL (n=13)		Vitamin D $<$ 30 ng/mL (n=46)		P
	n	%	n	%		n	%	n	%	
Steatosis grade 2-3	23	59	10	50	0.512 ⁽¹⁾	7	54	26	57	0.864 ⁽¹⁾
Inflammation \geq 2 foci per 200X field	12	31	2	10	0.092 ⁽¹⁾	6	46	8	17	0.039 ⁽¹⁾
Ballooning grade 2-3	20	51	6	30	0.124 ⁽¹⁾	6	46	20	44	0.864 ⁽¹⁾
Advanced Fibrosis	8	20	3	15	0.608 ⁽¹⁾	3	23	8	17	0.643 ⁽¹⁾
NASH	26	67	13	65	0.898 ⁽¹⁾	8	62	31	67	0.694 ⁽¹⁾

NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease; NASH: nonalcoholic steatohepatitis; * Kleiner *et al.* $>$ or $=$ 3. Categorical values are number (n) and percentage (%). ¹Univariate logistic regression.

Most patients (85%) were classified as having indeterminate or absence of fibrosis by NAFLD score, while the minority of patients (24%) were classified as having low risk of advanced disease by BARD score. The mean value of HOMA-IR was 4.17 ± 5.29 and the mean value of LAP was 97.10 ± 74.29 . There was no difference between the groups in the values of the variables mentioned above (Table 5).

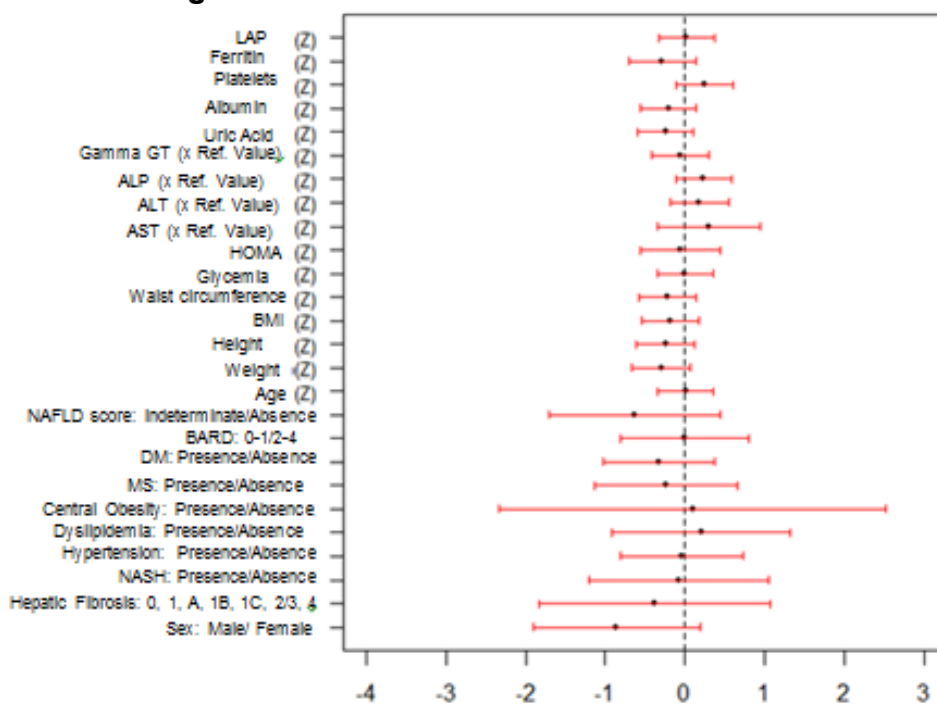
Table 5 - Association between serum levels of vitamin D and severity of NAFLD by non-invasive methods and clinical characteristics score.

Variables	Vitamin D ≥ 20 ng/mL (n=90)		Vitamin D < 20 ng/mL (n=49)		P	Vitamin D ≥ 30 ng/mL (n=30)		Vitamin D < 30 ng/mL (n=109)		P
	n	%	n	%		n	%	n	%	
BARD					0.995 ⁽¹⁾					0.205 ⁽¹⁾
0-1	22	24	12	24		10	33	24	22	
2-4	68	76	37	76		20	67	85	78	
NAFLD Score					0.247 ⁽¹⁾					0.714 ⁽¹⁾
Indeterminate/absence	73	82	43	90		23	77	93	87	
Advanced	16	18	5	10		7	23	14	13	
HOMA-IR	4.28 (0.89)		4.00 (0.80)		0.825 ⁽¹⁾	6.87 (3.14)		3.62 (0.40)		0.134 ⁽¹⁾
LAP	96.65 (7.60)		97.92 (11.35)		0.923 ⁽¹⁾	103.05 (17.24)		95.52 (6.61)		0.628 ⁽¹⁾

NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease; HOMA-IR: Homeostatic model assessment-estimated insulin resistance; LAP: Lipid accumulation product; Categorical values are number (n) and percentage (%). Continuous variables mean ± standard error (SE).¹Univariate logistic regression.

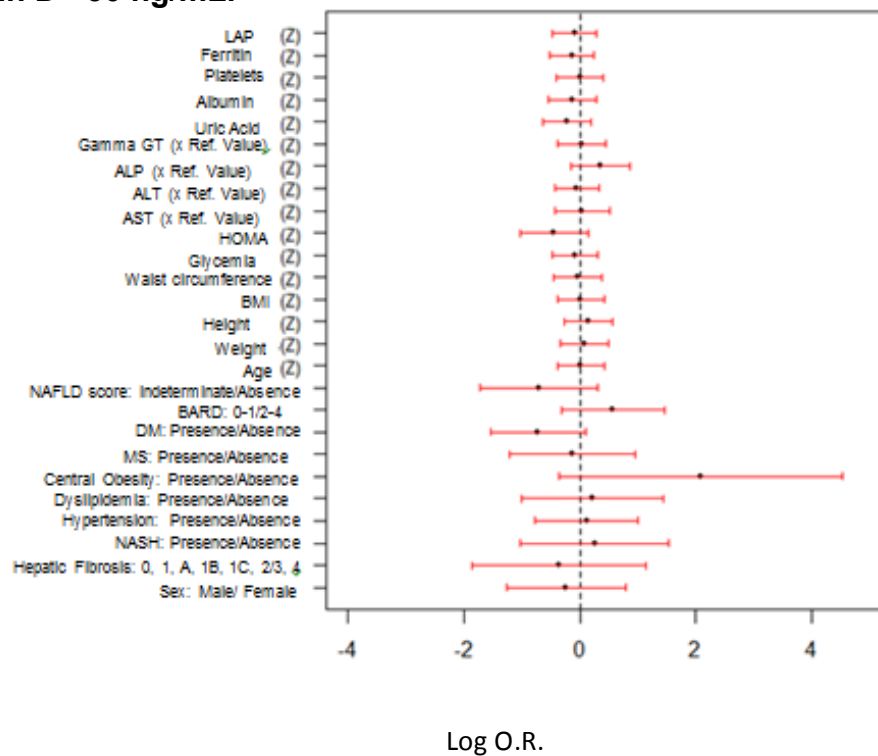
The risk and protective factors for the occurrence of altered levels of vitamin D in the levels of 20 ng/mL and 30 ng/mL can be seen in graphics 1 and 2.

Graphic 1 - Risk and protective factors for the occurrence of altered levels of vitamin D - 20 ng/mL.



Log O.R.

Graphic 2 - Risk and protective factors for the occurrence of altered levels of vitamin D - 30 ng/mL.



At the cutoff point of vitamin D 20 ng/mL, the variables selected in the univariate analysis for multivariate ($P < 0.25$) were: sex, diagnosis, NAFLD score, weight, height, waist circumference, ALP (x ref., value), uric acid and platelets. At the cutoff point of vitamin D 30 ng/mL, the variables selected in the univariate analysis for multivariate ($P < 0.25$) were: central obesity, DM, BARD score, NAFLD score, homa, ALP (x ref., value) and ferritin.

The prevalence of hypovitaminosis D was 78% in the studied population. At the cut-off point for vitamin D of 20 ng/mL there was no significant difference in variables studied. However, at the cut-off point for vitamin D of 30 ng/mL we observed relation between low levels of vitamin D and absence of diabetes ($p=0.011$), showing that diabetic patients presented less chance of alteration in vitamin D than non-diabetic patients. There was also a significant association of BARD score on altered levels of vitamin D ($p=0.016$), showing that patients with BARD score classified between 2 to 4 had higher chance of vitamin D insufficiency when compared with patients with BARD score classified between

0 to 1 (Table 6). In the final model BARD score or absence of DM were able to predict 10.13% of the occurrence of altered levels of vitamin D.

Table 6 - Variables that significantly influence vitamin D levels in both cut-off points.

Variables	Vitamin D - 20 ng/mL			Vitamin D - 30 ng/mL		
	O.R.	C.I. - 95%	P	O.R.	C.I. - 95%	P
DM	-	-	-	0.22	[0.07; 0.71]	0.011 ⁽²⁾
BARD = 2 – 4	-	-	-	4.58	[1.32; 15.87]	0.016 ⁽²⁾
ALP (x Ref.value)	2.66	[0.88; 8.03]	0.082 ⁽²⁾	-	-	-
Platelets (x 10 ³ /mm ³)	1.40	[0.99; 1.09]	0.098 ⁽²⁾	-	-	-
Nagelkerke pseudo R ²	4.91%			10.13%		
Hosmer-Lemeshow test	0.801			1.000		

DM: diabetes mellitus; ALP: alkaline phosphatase; OR: Odds Ratio; CI: Confidence interval.
²Multivariable logistic regression.

DISCUSSION

Our study showed that most patients with NAFLD presented hypovitaminosis D (< 30 ng/mL) at diagnosis. It was also observed that low levels of vitamin D (cut-off point of 30 ng/mL) was related to the absence of DM, and to the severity of NAFLD according to BARD score. We evaluated a series of patients with NAFLD diagnosed according to AGA criteria and all other causes of liver disease were excluded. Most patients in the present study presented one or more comorbidities related to MS such as central obesity, hypertension, DM and dyslipidemia corroborating NAFLD diagnosis.

In literature, there is no consensus of optimum levels of vitamin D, although serum levels of 25(OH)D below 30 ng/mL are considered by many authors as hypovitaminosis D^(22,23). In the present study, the subjects (n=139) with NAFLD diagnosis were evaluated in two different cutoffs of vitamin D levels: 20 ng/mL and 30 ng/mL, levels recognized by the guideline of the Endocrine Society⁽²³⁾.

These levels are different from the cutoffs accepted by the Institute of Medicine, which classifies as sufficiency levels above 20 ng/mL, the risk of deficiency levels less than 12 ng/mL and levels above 50 ng/mL associated with damages, like vascular calcification^(24,25). Furthermore, it is been currently pointed out that the majority of the population has a vitamin D requirement of less than or equal to 20 ng/mL. Moreover, by the definition using the Estimate Average Requirement (EAR), approximately half of the population needs 16 ng/mL, or less⁽²⁶⁾. The goal for vitamin D levels would be to achieve above EAR and not above Recommended Dietary Allowances (RDA)⁽²⁶⁾, that means the average daily dietary intake level that is sufficient to meet the nutrient requirement of nearly all (97 to 98 percent) healthy individuals in a group⁽²⁷⁾.

Vitamin D refers to a group of fat-soluble secosteroid hormones. Vitamin D derives from both dietary sources, such as oily fish (vitamin D₂) and from dermal synthesis (vitamin D₃). In the skin, ultraviolet radiation converts 7-dehydrocholesterol to pre-vitamin D₃ and then to vitamin D₃. In the liver, vitamin D is metabolized to 25(OH)D or calcidiol⁽²⁸⁾. Calcidiol is then transported to the kidney where it is further hydroxylated to the active form (1 α ,25-dihydroxyvitamin D) or calcitriol. The production of calcitriol is regulated by hormonal cues (such as parathyroid hormone and Fibroblast growth factor 23) and serum calcium and phosphate levels⁽²⁹⁾.

Recent studies have reported an association between low serum levels of vitamin D and NAFLD⁽³⁰⁻³²⁾. Vitamin D regulates cell proliferation and differentiation and has immunomodulatory, anti-inflammatory and antifibrotic properties. Evidence showed that vitamin D deficiency contributes to the development of IR and NAFLD⁽²⁸⁾. Vitamin D₃ insufficiency or deficiency, as indicated by low circulating levels of serum 25(OH)D is associated with increased systemic markers of inflammation in patients with NAFLD⁽³³⁾. It is plausible to speculate that circulating serum 25(OH)D levels might play a role in the development and/or progression of NAFLD via its anti-inflammatory properties⁽³⁴⁾.

We verified serum levels of vitamin D < 30 ng/mL in 78% of patients. This data is in agreement with other studies reporting low serum levels of vitamin D in 52-72% of the world population^(35,36). Differences among populations regarding NAFLD genetics, UV light exposure, vitamin D supplementation and cultural aspects warrant studies in different populations. Only a few studies have addressed the prevalence of vitamin D insufficiency in specific clinical scenarios in Brazil while large population data are still missing⁽³⁷⁾. Although Brazil is a tropical/subtropical geographic area with elevated ultraviolet (UV) radiation⁽³⁸⁾, studies with specific populations have suggested a high prevalence of vitamin D deficiency in Brazil^(36,37,39). It was not detected in children in Recife, latitude 8°S⁽⁴⁰⁾, however, it was evident in São Paulo, latitude 23°S^(36,41). In South Brazil, due to its climate characteristics, a larger prevalence of hypovitaminosis D is expected. A study in Porto Alegre, 30°S, in the early spring, identified hypovitaminosis D in 78% of medical inpatients⁽⁴²⁾. In Belo Horizonte, 19°S, a study showed that 42.4% of the patients studied presented hypovitaminosis D, considering hypovitaminosis D below 32-ng/mL⁽⁴³⁾. Hypovitaminosis D in the elderly has been detected all around the world including Latin America⁽⁴⁴⁾.

Interestingly, we did not find an association between diabetes and hypovitaminosis D. In the present study, patients without DM and patients with a higher BARD score presented more frequently low levels of vitamin D (<30 ng/mL). The presented data do not corroborate the role of vitamin D in IR as a factor related to the development of NAFLD, as reported in other references^(45,46). Interestingly considering cutoffs of <20 ng/mL no association was verified. The results raise the question of with levels we should consider deficiency or insufficiency. However, there is previous evidence that the impacts of vitamin D deficiency on metabolic disturbances are accentuated in subjects with DM compared with non-diabetic controls⁽⁴⁷⁾. This association has as a possible explanation the expression of both 1-alpha-hydroxylase and the vitamin D receptor (VDR) in β -pancreatic cells, existing a relationship between low levels of vitamin D and impaired pancreatic β -cell function^(7,9). Vitamin D treatment has been shown to improve, and even prevent, type 1 diabetes in both human and animal models. These effects have been mainly attributed to

the immunomodulatory actions of vitamin D⁽⁴⁸⁾. Vitamin D deficiency causes reduced insulin secretion in rats and humans, and its replenishment improves β -cell function and glucose tolerance⁽⁴⁹⁾. Moreover, certain allelic variations in the VDR and vitamin D-binding protein (DBP) might influence glucose tolerance and insulin secretion, thus contributing to the genetic risk for type 2 diabetes. As vitamin D modulates insulin receptor gene expression and insulin secretion, it is an interesting environmental candidate for type 2 diabetes mellitus pathogenesis and development⁽⁵⁰⁾. These mechanisms may explain at least partially the role of vitamin D in the etiopathogenesis of IR and also on NASH severity. It is well known that DM is a factor associated with the risk of severity of NASH.

We verified the association of low levels of vitamin D and severity of NASH, by founding that patients with BARD between 0 to 1 presented greater chances of having normal levels of vitamin D. BARD score is a simple scoring system designed to identify patients with NAFLD with low risk of advanced disease⁽¹⁹⁾. In this regard, others have shown an association of lower vitamin D levels with increased severity of steatosis, necroinflammation, and fibrosis in NAFLD^(30,31). Furthermore, serum vitamin D levels could predict the severity of NAFLD independently of other components of the MS, such as IR or BMI⁽⁵¹⁾. Our results corroborate the role of vitamin D as a cofactor in the physiopathogenesis of NAFLD, by BARD score, in agreement with previously reported data^(32,52,53). Although the relationship between serum levels of vitamin D and severity of NAFLD has been reported in the literature, there are other studies showing no association^(54,55).

The evidence to date suggests that vitamin D may be beneficial in preventing the progression of NAFLD. Therefore, clinical trials that directly evaluate the effect of vitamin D supplementation on disease progression in NAFLD subjects are warranted⁽⁵⁶⁾. In a study, the investigators randomly assigned NAFLD participants to receive vitamin D or not. No differences in serum levels of liver enzymes, HOMA-IR or grades of hepatic steatosis were shown. However there was a significant decrease in the levels of high sensitivity c-reactive protein and

MDA (malondialdehyde) - a marker of lipid peroxidation - in the subjects treated with vitamin D. The finding that vitamin D treatment resulted in improvement of inflammatory biomarkers in NAFLD subjects suggests that vitamin D supplementation may be considered as an adjunctive therapy to attenuate systemic inflammation in NAFLD⁽⁵⁷⁾.

Limitations of this study are recognized. The total number of biopsied patients was insufficient for correlation with histological characteristics because the biopsies were not performed exclusively for the study but according to a clinical indication. Also, there was not a control group for comparison of vitamin D levels in patients with and without NAFLD.

In recent literature⁽²⁶⁾ it has been reported that vitamin D levels are being misinterpreted, because for absence of diagnosis of hypovitaminosis D high levels of vitamin D must be achieved, making us question that perhaps this may be the other cause of the low association between levels of vitamin D, considered in this study, comorbidities, and severity of the disease.

The most important strengths of the current study were the dosage of vitamin D by the same method in all patients and before the initiation of vitamin D supplementation in patients with hypovitaminosis. Furthermore, diagnosis of NAFLD was performed at the liver center, other causes of liver disease were excluded and patients were prospectively followed.

In conclusion, the present study showed the presence of hypovitaminosis D in most patients with NAFLD, low levels of vitamin D were related to the absence of DM and to the severity of NAFLD according to BARD score. Further studies are needed with a higher number of patients and to demonstrate whether vitamin D supplementation benefits patients with NAFLD.

REFERENCES

1. Chalasani, N., et al. *The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association*. Hepatology, 2012. **55**(6): p. 2005-2023.
2. Day, C.P. *From Fat to Inflammation*. Gastroenterology, 2006. **130**(1): p. 207-210.
3. Loomba, R., Sanyal, A.J. *The global NAFLD epidemic*. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol 2013.**10**: p. 686-690.
4. Munteanu, M.A., Nagy, G.A., Mircea, P.A. *Current Management of NAFLD*. Clujul Medical, 2016. **89**(1): p. 19-23.
5. 4. Adams, L.A., et al. *The Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Population-Based Cohort Study*. Gastroenterology, 2005. **129**(1): p. 113-121.
6. Vernon, G., Baranova, A., Younossi, Z.M. *Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults*. Aliment Pharmacol Ther, 2011. **34**(1): p. 274-285.
7. Kwok, R.M., Torres, D.M., Harrison, S.A. *Vitamin D and Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Is It More Than Just an Association?* Hepatology, 2013. **58**(3): p. 1166-1174.
8. Lu, L., et al. *Plasma 25-Hydroxyvitamin D Concentration and Metabolic Syndrome Among Middle-Aged and Elderly Chinese Individuals*. Diabetes Care, 2009. **32**(7): p. 1278-1283.
9. Kitson, M.T., Roberts, S.K. *D-livering the message: The importance of vitamin D status in chronic liver disease*. Journal of Hepatology, 2012. **57**: p. 897-909.
10. Souza, W.N., et al. *Association between 25-hydroxyvitamin D and inflammatory biomarker levels in a cross-sectional population-based study, São Paulo, Brazil*. Nutr Res., 2016. **36**(1): p.1-8.
11. International Diabetes Federation. *The IDF consensus worldwide definition of the Metabolic Syndrome*. 2006. p: 1-24.
12. Cleeman, J.I. *Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III)*. JAMA, 2001. **285**(19): p. 2486–2497.

13. Huang, P.L. *A comprehensive definition for metabolic syndrome*. *Dis Model Mech*, 2009. **2**(5-6): p. 231–237.
14. Roth, H.J. et al. *Accuracy and clinical implications of seven 25-hydroxyvitamin D methods compared with liquid chromatography–tandem mass spectrometry as a reference*. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008. **45**(2): p. 153-159.
15. Matthews, D.R., et al. *Homeostatic model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting glucose and insulin concentrations in man*. *Diabetologia*, 1985. **28**: p. 412-419.
16. Wehr, E., et al. *The Lipid Accumulation Product Is Associated with Impaired Glucose Tolerance in PCOS Women*. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2011. **96** (6): p. 986-990.
17. Kleiner, D.E., et al. *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. *Hepatology*, 2005. **41**(6): p. 1313-1321.
18. Angulo, P., et al. *The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD*. *Hepatology*, 2007. **45**(4): p. 846-854.
19. Harrison, S.A. et al. *Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease*. *Gut*, 2008. **57**(10): p. 1441–1447.
20. Nishida, C., Ko, G.T., Kumanyika, S. *Body fat distribution and noncommunicable diseases in populations: overview of the 2008 WHO Expert Consultation on Waist Circumference and Waist-Hip Ratio*. *Eur J Clin Nutr.*, 2010. **64**(1): p. 2-5.
21. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee*. World Health Organ Tech Rep Ser, 1995. **854**: p. 1-452.
22. Holick, M.F. *Vitamin D Deficiency*. *The New England Journal of Medicine*, 2007. **357**(3): p. 266-281.
23. Holick, M.F., et al. *Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline*. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2011. **96**(7): p. 1911-1930.
24. Dawson-Hughes, B., et al. *Estimates of optimal vitamin D status*. *Osteoporos Int.*, 2005. **16**(7): p. 713-716.

25. Pérez-Hernández, N., et al. *Vitamin D and its effects on cardiovascular diseases: a comprehensive review*. The Korean Journal of Internal Medicine, 2016. **27**: p. 1-12.
26. Manson, J.E., et al. Vitamin D Deficiency — Is There Really a Pandemic?. New England Journal of Medicine, 2016. 375(19): p. 1817-1820.
27. Padovani, R.M., et al. *Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais*. Rev. Nutr., Campinas, 2006. **19**(6): p. 741-760.
28. Alvarez, J.A., Ambika, A. *Role of Vitamin D in Insulin Secretion and Insulin Sensitivity for Glucose Homeostasis*. International Journal of Endocrinology, 2010. p. 1-18.
29. Zúñiga, S., et al. *Vitamin D and the vitamin D receptor in liver pathophysiology*. Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology, 2011. **35**(4): p. 295-302
30. Küçükazman, M., et al. *The association of vitamin D deficiency with nonalcoholic fatty liver disease*. CLINICS, 2014. **69**(8): p. 542-546.
31. Dasarathy J., et al. *Hypovitaminosis D is associated with increased whole body fat mass and greater severity of non alcoholic fatty liver disease*. Liver Int., 2014. **34**(6): p.118-127.
32. Hao, Y., et al. *Serum vitamin D is associated with non-alcoholic fatty liver disease in Chinese males with normal weight and liver enzymes*. Acta Pharmacologica Sinica, 2014. **35**(9): p. 1150-1156.
33. Ngo. D.T., et al. *Does Vitamin D Modulate Asymmetric Dimethylarginine and C-Reactive Protein Concentrations?* The American Journal of Medicine, 2010. **123**(4): p. 335-341.
34. Jablonski, K.L., et al. *Low 25-hydroxyvitamin D level is independently associated with non-alcoholic fatty liver disease*. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases, 2013. **23**(8): p. 792-798.
35. Orwoll. E., et al. *Vitamin D deficiency in older men*. J Clin Endocrinol Metab.,2009. **94**(4): p. 1214-1222.
36. Maeda, S.S., et al. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D*. Arq Bras Endocrinol Metab., 2014. **54**(5): p. 411-433.
37. Eloi, M., et al. *Vitamin D deficiency and seasonal variation over the years in São Paulo, Brazil*. Osteoporos Int., 2016. **27**(12): p. 3449-3456.

38. Peracchi, O.A.B., et al. *Low serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D in children and adolescents with systemic lupus erythematosus*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2014. **47**(8): p. 721-726.
39. Arantes, H.P., et al. *Correlation between 25-hydroxyvitamin D levels and latitude in Brazilian postmenopausal women: from the Arzoxifene Generations Trial*. Osteoporos Int., 2013. **24**(1): p. 2707-2712.
40. Linhares, E.R., et al. *Effect of nutrition on vitamin D status: studies on healthy and poorly nourished Brazilian children*. American journal of clinical nutrition, 1984. **39**(4): p. 625-630.
41. Saraiva, G.L., et al. *Influence of ultraviolet radiation on the production of 25 hydroxyvitamin D in the elderly population in the city of São Paulo (23° 34'S), Brazil, 2005*. **16**(12): p. 1649-1654.
42. Premaor, M.O., et al. *Hyperparathyroidism Secondary to Hypovitaminosis D in Hypoalbuminemic Is Less Intense than in Normoalbuminemic Patients: A Prevalence Study in Medical Inpatients in Southern Brazil, 2004*. **24**(1): p. 47-53.
43. Silva, B.C.C., et al. *Prevalência de Deficiência e Insuficiência de Vitamina D e sua Correlação com PTH, Marcadores de Remodelação Óssea e Densidade Mineral Óssea, em Pacientes Ambulatoriais*. Arq Bras Endocrinol Metab., 2008. **52**(3): p. 482-488.
44. Lips, P., et al. *The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation*. Journal of Internal Medicine, 2006. **260**(3): p. 245-254.
45. Musso, G., Gambino, R., Cassader M. *Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)*. Prog Lipid Res., 2009. **48**: p. 1-26.
46. Ahmadiéh, H., et al. *Hypovitaminosis D in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Relation to Disease Control and Complications*. ISRN Endocrinology, 2013. p. 1-8
47. Al-Daghri, N.M., et al. *Hypovitaminosis D associations with adverse metabolic parameters are accentuated in patients with Type 2 diabetes mellitus: A body mass index-independent role of adiponectin?* Journal of Endocrinological Investigation, 2013. **36**(1): p. 1-6.
48. Mathieu, C., et al. *Vitamin D and diabetes*. Diabetologia, 2005. **48**(7): p. 1247-1257.
49. Norman, A.W., et al. *Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin*. Science, 1980. **209**(4458): p. 823-825.

50. Ortlepp, J.R., et al. *The vitamin D receptor gene variant and physical activity predicts fasting glucose levels in healthy young men*. Diabetic Medicine, 2003. **20**(6): p. 451-454.
51. Targher, G., et al. *Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease*. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases, 2007. **17**(7): p. 517-524.
52. Chung, G.E., et al. *The serum vitamin D level is inversely correlated with nonalcoholic fatty liver disease*. Clin Mol Hepatol., 2016. **22**(1): p. 146-151.
53. Souza, W.N., et al. *Association between 25-hydroxyvitamin D and inflammatory biomarker levels in a cross-sectional population-based study, São Paulo, Brazil*. Nutr Res., 2016. **36**(1): p.1-8.
54. Bril, F., et al. *Relationship of vitamin D with insulin resistance and disease severity in non-alcoholic steatohepatitis*. Journal of Hepatology, 2015. **62**(2): p. 405-411.
55. Hourigan, S.K., et al. *The Relationship between Vitamin D Status and Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Children*. J Pediatr Gastroenterol Nutr., 2015. **60**(3): p. 396-404.
56. Eliades, M., Spyrou, E. *Vitamin D: a new player in non-alcoholic fatty liver disease?* World J Gastroenterol., 2015. **21**(6): p. 1718-1727.
57. Sharifi, N., et al. *Does vitamin D improve liver enzymes, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in adults with non-alcoholic fatty liver disease? A randomized clinical trial*. Endocrine, 2014. **47**(1): p. 70-80.

5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo avaliou a hipovitaminose D com a gravidade da DHGNA e presença de comorbidades. Por não haver consenso na literatura de valor de corte da vitamina D, foi realizado estudo abordando dois grupos que se subdividiam: vitamina D ≥ 20 ng/mL e vitamina < 20 ng/mL, vitamina D ≥ 30 ng/mL e vitamina < 30 ng/mL. Observou-se no estudo relação entre baixos níveis de vitamina D (< 30 ng/mL) e ausência de DM e gravidade da DHGNA por BARD score.

O número de pacientes estudados pode ser considerado como limitação do atual estudo. O número de pacientes com avaliação hepática histológica foi bem menor em relação ao total de pacientes incluídos, uma vez que as biópsias foram realizadas a partir de indicação clínica e não especificamente para pesquisa, fator que pode ter prejudicado a avaliação da relação entre vitamina D e os parâmetros histológicos.

Estudos com número maior de pacientes com avaliação histológica e investigação da efetividade da suplementação da vitamina D, principalmente em pacientes diabéticos, são necessários. A reposição de vitamina D em pacientes deficientes ou insuficientes, objetivando níveis normais em pacientes com DHGNA poderia ser uma medida coadjuvante importante no manejo clínico desses pacientes.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Estudo: RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D E DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

Investigadores: Nutricionista Jeniffer Danielle Machado Dutra e Profa. Cláudia Alves Couto

Prezado (a) paciente,

Sr (a) _____

A doença hepática gordurosa não-alcoólica (também chamada de esteatose) é causada pelo acúmulo de gordura no fígado, e atinge 20 a 30% da população. Se não for tratada e controlada, podem ocorrer, em alguns casos, cirrose hepática e câncer de fígado.

Recentemente foi demonstrado que a vitamina D regula o funcionamento das células, além de ajudar no sistema de defesa do organismo e possuir funções protetoras ao fígado. A vitamina D pode ser obtida pela exposição solar ou pela alimentação, entretanto os alimentos disponíveis são poucos, tornando a exposição solar ou suplementação alimentar as principais formas de adquirir essa vitamina. Para que possa desempenhar suas funções no organismo a vitamina D precisa ser ativada no fígado. A falta dessa vitamina em toda a população tem sido cada vez mais frequente. Alguns estudos mostram que a falta da vitamina D pode estar envolvida como causa de esteatose e também causar doença mais grave.

Assim, você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa, que tem como objetivo investigar a relação entre a vitamina D no exame de sangue e a esteatose.

Se você concordar em participar deste estudo você deverá comparecer ao consultório da nutricionista do estudo no Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não-Alcólica conforme as consultas agendadas regularmente. O estudo proposto utilizará as informações de seu prontuário (resultado de exames de sangue e laudo da biópsia hepática). Não serão realizados exames ou procedimentos médicos exclusivos para o estudo. Os riscos da coleta de sangue são: flebite (inflamação da veia), hematoma, trombose, extravasamento e dor, entretanto o exame sempre será realizado por um profissional capacitado. A biópsia hepática apresenta riscos como lesão de pulmão ou da vesícula, sangramento, dor e infecção, porém estas complicações são raras e a biópsia hepática sempre será realizada por um médico capacitado, sendo que o paciente terá toda assistência necessária sem custos para mesmo.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação.

Se, após assinar o termo de consentimento, o(a) Sr(a) mudar de idéia é possível retirar esta autorização em qualquer momento, solicitando que o Sr(a) seja excluído(a) da pesquisa, sem que isso implique em qualquer dificuldade em seu tratamento. Caso não queira participar, continuará recebendo a mesma atenção e o mesmo tratamento que recebeu até agora. O Sr(a) receberá uma via do termo de consentimento de igual teor também assinada pelo pesquisador.

Para qualquer esclarecimento, por favor, entre em contato com a Nutricionista Jeniffer Danielle Machado Dutra ou com a Dra. Cláudia Alves Couto, no Ambulatório de Doença Hepática Gordurosa Não-Alcólica, todas às terças – feiras de 08:00 h às 11:00 h. Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG para informações sobre o projeto.

Endereço do Ambulatório de Fígado: Centro Jenny Faria de Assistência à Saúde do Idoso e da Mulher. Alameda Álvaro Celso, 5º andar. Bairro Santa Efigênia, BH – MG.

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

Telefax: (31)3409-4592, email: coep@prpq.ufmg.br

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

Nutr. Jeniffer Danielle Machado Dutra CRN 7712

Dra. Cláudia Alves Couto

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____

APÊNDICE B – Protocolo de atendimento inicial**PROTOCOLO DE ATENDIMENTO INICIAL**

Data: ____ / ____ / ____

Responsável pelo atendimento inicial: _____

Nome: _____

Registro: _____

1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E SOCIECONÔMICAS

Cor: (1) Branco (2) Parda-moreno (3) Negro (2) Amarela (4) Indígena

Sexo: (1) M (2) F

Data de Nascimento: ____ / ____ / ____ Idade: _____

Naturalidade: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Profissão: _____ Atividades profissionais: _____

Renda mensal: (1) 1 a 2 salários mínimos

(2) 3 a 4 salários mínimos

(3) 5 a 6 salários mínimos

(4) acima de 6 salários mínimos

2. ANAMNESE**Queixa****principal:** _____**História da moléstia atual:**

Anamnese especial

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

Esôfago

Pirose (sensação de queimação retroesternal subindo) (0) não (1) sim

Dor torácica (não em queimação) (0) não (1) sim

Disfagia (dificuldade para engolir) (0) não (1) sim

Globus (bolo/nó na garganta) (0) não (1) sim

Estômago e duodeno

Desconforto pós-prandial (0) não (1) sim

Dor epigástrica (região do abdome acima do umbigo) (0) não (1) sim

Aerofagia (engole ar ao falar ou comer) (0) não (1) sim

Erucação excessiva (0) não (1) sim

Náusea (várias vezes por semana) (0) não (1) sim

Vômitos (1 ou mais por semana) (0) não (1) sim

Ruminação (retorno do alimento engolido à boca, mastiga e engole novamente) (0) não (1) sim

Intestino

Dor ou desconforto abdominal (0) não (1) sim

Distensão abdominal (sensação) (0) não (1) sim

Constipação (ao menos 2 dos seguintes: menos que 3 evacuações/semana; esforço (ao menos 25% das evacuações), fezes duras (25%), sensação de evacuação incompleta (25%), sensação de obstrução anorretal (25%), manobras manuais para facilitar (25%) (0) não (1) sim

Diarréia (0) não (1) sim

Outro sintoma intestinal inespecífico (diferente dos acima) (0) não (1) sim

Vesícula Biliar e Esfíncter de Oddi

Dor no hipocôndrio direito (dias alternados, dura 30 min ou mais, não alivia com antiácidos,

independe da postura) (0) não (1) sim

Anorretais

Incontinência fecal (0) não (1) sim

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

Aparelho respiratório e cardiovascular: apresenta alguma queixa? (0) não (1) sim

Qual(is)? _____

_____ Dor torácica (0) não (1) sim (se sim, descrever e discutir)

Dispnéia (0) não (1) sim

Tosse (0) não (1) sim

Aparelho genito urinário: Apresenta alguma queixa? (0) não (1) sim

Qual(is) _____

Menopausa: (0) não (1) sim Idade: _____ anos

Aparelho locomotor:

Algum problema osteoarticular: (0) não (1) sim

Osteoartrose (0) não (1) sim

Doenças reumatológicas (artrite, lúpus, etc) (0) não (1) sim

Hérnia de disco (0) não (1) sim

Tendinites (0) não (1) sim

Lombalgia (0) não (1) sim

Outros.

Quais? _____

Esse problema impede de fazer atividade física: (0) não (1) sim

Especificar: _____

Estilo de vida:

Atividade física: (0) não (1) sim

Tipo: (1) aeróbica (2) anaeróbica

Duração: _____ minutos

Frequência: _____ vezes na semana

Atividade física na profissão: (0) não (1) sim Qual? _____

Historia Familiar:

História de doenças na família [marcar: (a) pai (b) mãe (c) irmão(s) (d) ignorado]:

Obesidade _____ Dislipidemia _____

Hipertensão _____ Hepatocarcinoma _____

Cirrose _____ DCV (AVE, IAM, Angina) _____

Diabetes _____ DHGNA _____

História Previa:

Cirurgia: (0) não (1) sim Tipo: _____

Transfusão de sangue (0) não (1) sim Data: _____

Diabetes gestacional: (0) não (1) sim

Problemas de coração: (0) não(1) sim Qual? _____

Derrame: (0) não(1) sim

Já usou medicamentos para hipertensão: (0) não (1) sim Qual? _____

Tem hipertensão:(0) não (1) sim . Há quanto tempo? _____

Já usou medicamentos para diabetes: (0) não(1) sim Qual? _____

Tem diabetes: (0) não(1) sim Há quanto tempo? _____

Já usou medicamentos para hipercolesterolemia: (0) não(1) sim Qual? _____

Tem hipercolesterolemia: (0) não(1) sim Há quanto tempo? _____

Hepatite ou doença prévia do fígado: (0) não(1) sim

Ganho de peso: (1) infância (2) adolescência (3) vida adulta (4) não

Já fez algum tratamento para perda de peso: (0) não(1) sim

Se sim, em que período da vida? (1) infância (2) adolescência (3) vida adulta

Utilizou medicamento para perda de peso: (0) não(1) sim

Qual medicamento e período de utilização:

Etilismo: (0) não (1) sim (2) interrompido:

Há quanto tempo? _____ anos

Duração:

Tipo de bebida:

Média semanal:

Cálculo da quantidade: (1) > 2 doses/semana (2) > 3 doses// semana

1 dose= 14g de etanol

Bebida	Unidade	mL	Etanol (g)
Cachaça	Dose	50	17
	Garrafa	660	220
Destilados (whiskey, vodka)	Dose	50	+/- 16
Aperitivos (martini, cam pari)	Dose	50	+/- 8
Cerveja	Copo	250	9
	Lata	350	13
	Garrafa	660	25

$g/L = \text{°GL} \times 10 \times 0,7893$ Fonte: Neves, MM e cols. Concentração de etanol em bebidas alcoólicas mais consumidas no Brasil. GED 8(1):17-20, 1989

Tabagismo: (0) não (1) sim(2) interrompido: Há quanto tempo? _____ anos

Duração: _____ anos Quantidade (anos/maço): _____

Exposição a petroquímicos: (0) não (1) sim (98) não sabe(99) não se aplica

Duração: _____ anos

Tempo de afastamento: _____ anos

*Trabalhou com solventes, tintas, gasolina, indústria, manipulação direta de petroquímicos

Drogas ilícitas: (0) não (1) sim(98) não sabe (99) não se aplica

Quais:

Tempo de uso: _____

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

3. ANAMNESE NUTRICIONAL

Preferências alimentares: _____

Aversões alimentares: _____

Alergias alimentares: _____

Faz uso de líquidos nas refeições: (0) não (1) sim

Quais: _____

Número de pessoas na casa: _____

Hidratação diária: _____ ml/dia

Consumo de sal mensal: _____ kg

Consumo de açúcar mensal: _____ kg

Consumo de gorduras mensal: óleo vegetal: _____

Azeite: _____ Margarina: _____ Manteiga: _____ Banha: _____

Número de refeições diárias: _____

Principais refeições: (0) casa (1) fora de casa

Período do dia em que mais sente fome: _____

Peso atual: _____

Altura: _____

Peso habitual: _____

Circunferência da cintura: _____

IMC: _____

4. EXAME FÍSICO:

Ectoscopia:

Cabelos: (0) NDN – Nada digno de nota (1) Alopecia

Cutâneo: (1) *Acantose nigricans*

(2) Eritema palmar

(3) Aranhas vasculares

(4) Outras. Quais? _____

AR: Eupnéico: (0) não (1) sim

Ausculta: (0) normal (1) ruído adventício: Qual(is)? _____

ACV: Ausculta: Ritmo: (1) Regular (2) Irregular

F.C.: _____

P.A.: _____

Pulsos periféricos: femoral () presente () ausente

tibial posterior () presente () ausente

dorsal do pé () presente () ausente

Sopro carotídeo: (0) não (1) sim

Edema de mmii: (0) não (1) sim

Dor a palpação abdominal: (0) não (1) sim

Hepatomegalia: (0) não (1) sim

Ascite: (0) não (1) sim

Esplenomegalia: (0) não (1) sim

5.Diagnóstico

() DHGNA sem indicação de BX – provável esteatose pura () DHGNA com indicação de bx () F0-F1 () F2-F4

Comorbidades associadas:

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

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

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

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

Cirrose: (0) não (1) sim

Observações:

Obesidade: IMC > 29,9kg/m² ou CC: H ≥ 94 e M ≥ 80cm

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

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

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

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

DCV (AVE, IAM, Angina)

Conduta:

Retorno:

Médico

CRM

Nutricionista

CRN

Indicações de BX hepática:
1. AML \geq 1/40 FAN \geq 1/80
2. Presença de SM (CC > 94 cm para homens; > 80 cm para mulheres; presença de HDL \leq 45 para homens; HDL \leq 50 para mulheres; TG \geq 150 mg/dL; GLI jejum \geq 100mg/dL)
3. Outras doenças do fígado associadas
4. Ferritina > 500 e índice de saturação de transferrina > 50%
5. NAFLD SCORE > 0,67

Contra- indicações de BX hepática:
1. Plaquetas < 50.000/mm ³
2. TAP > 3 a 5 x controle
3. Uso de AAS ou AINES \geq 7 a 10 dias

EXAMES PARA EXCLUSÃO DE OUTRAS HEPATOPATIAS

<u>Exames</u>	<u>Data</u>	<u>Valor</u>	<u>Valores de Referência</u>
Celuroplasmina			
Alfa-1-antitripsina			
FAN			

Anti músculo liso			
Anti HCV			
Anti HBs			
Anti HBc			
Anti HVA			
HBsAg			
Eletroforese de proteínas			
Índice de saturação de transferrina			
Ferritina			

ANEXOS**ANEXO 1 – Parecer Consubstanciado do CEP**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D E DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

Pesquisador: Claudia Alves Couto

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 35869914.4.0000.5149

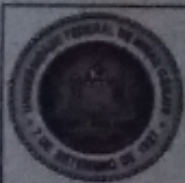
Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da UFMG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 851.620

Data da Relatoria: 30/10/2014



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

UFMG

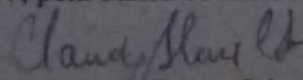
FOLHA DE APROVAÇÃO

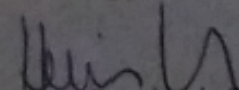
RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D E DOENÇA HEPÁTICA
GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

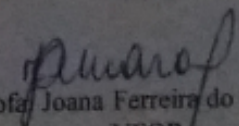
JENIFFER DANIELLE MACHADO DUTRA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO.

Aprovada em 08 de fevereiro de 2017, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Cláudia Alves Couto - Orientadora
UFMG


Prof. Henrique Oswaldo da Gama Torres
UFMG


Prof. Joana Ferreira do Amaral
UFOP

Belo Horizonte, 08 de fevereiro de 2017.