



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIA DA SAÚDE**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIA MÉDICO-  
CIRÚRGICAS**

**ANA LÚCIA DE PAULA HANEMANN**

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICO-LABORATORIAIS, HISTOLÓGICOS  
E IMUNO-HISTOQUÍMICOS DA CIRROSE CRIPTOGÊNICA EM PACIENTES  
SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE FÍGADO**

**FORTALEZA**

**2019**

ANA LÚCIA DE PAULA HANEMANN

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICO-LABORATORIAIS, HISTOLÓGICOS E  
IMUNO-HISTOQUÍMICOS DA CIRROSE CRIPTOGÊNICA EM PACIENTES  
SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE FÍGADO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

H214a Hanemann, Ana Lúcia de Paula.

Avaliação dos parâmetros Clínico-laboratoriais, histológicos e imuno-histoquímicos da cirrose criptogênica em pacientes submetidos ao transplante de fígado / Ana Lúcia de Paula Hanemann. – 2019. 157 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas, Fortaleza, 2019.

Orientação: Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho.

1. Transplante. 2. Cirrose criptogênica. 3. Expressão imuno-histoquímica. 4. Receptores ativados por proliferador de peroxissoma. 5. PPARy. I. Título.

CDD 617

---

ANA LÚCIA DE PAULA HANEMANN

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICO-LABORATORIAIS, HISTOLÓGICOS E  
IMUNO-HISTOQUÍMICOS DA CIRROSE CRIPTOGÊNICA EM PACIENTES  
SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE FÍGADO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Scricito Sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dr. Ana Paula Negreiros Nunes Alves  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. José Huygens Parente Garcia  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva  
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

---

Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa  
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus,  
meu guia e autor do meu destino,  
aos meus pais, irmãs e ao meu esposo.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me ajudar a agir sempre com sabedoria, prudência e pela ciência dos conselhos.

Aos meus pais **Maria de Lourdes de Paula Hanemann** e **Arold Hanemann** e as minhas irmãs **Valdirene Hanemann** e **Valéria Hanemann**, a todos os **Familiares** e **Amigos** pelo eterno amor e apoio.

Ao meu esposo **Allan Rodrigo Soares Maia**, pelo carinho, atenção e companheirismos durante a construção deste trabalho.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes**, pelo incentivo e confiança em mim depositada. Também sou imensamente grata pela oportunidade que me foi concedida.

Ao **Dr. Carlos Gustavo Hirth**, pela competência, atenção, exemplo de compromisso com a pesquisa e por viabilizar grande ajuda na execução deste trabalho.

A **Profa. Dr. Ana Paula Negreiros Nunes Alves**, cuja disponibilidade, incentivo e competência contribuíram para a minha pesquisa.

Ao Hospital Universitário Walter Cantídio, em especial a **Dr. José Huygens Parente Garcia**, por conceder espaço e oportunidade para a realização da pesquisa.

A todos os meus amigos, especialmente os conquistados durante essa trajetória. Agradeço pelo companheirismo e pela troca de experiência.

Ao Laboratório de Histopatologia do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM/UFC), em especial a **Dr. Paulo Goberlânio de Barros Sliva**, pela parceria concedida e o apoio durante a maioria das análises realizadas neste trabalho.

Aos colegas do Departamento de Patologia e Medicina Legal (DPML/UFC), que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Aos pacientes que participaram da pesquisa, pois sem eles não teria sido possível a realização deste trabalho.

*“Se a gente não pensar que quer sempre mais, fatalmente terá sempre menos. O homem só fracassa quando desiste de tentar: Todos os dias eu me levanto para vencer”.*

*(Aristóteles Onassis)*

## RESUMO

A cirrose hepática é uma condição clínica que representa o estágio final comum a várias doenças crônicas do fígado, em alguns casos, mesmo após estudo clínico, sorológico e anatomopatológico detalhado, não é possível esclarecer a doença hepática crônica de base, nesses casos, a cirrose é dita como criptogênica ou idiopática. Este estudo teve como objetivo principal avaliar os parâmetros clínico-laboratoriais, histológicos e imuno-histoquímicos da cirrose criptogênica em pacientes submetidos ao transplante de fígado. A pesquisa foi desenvolvida no Hospital Universitário Walter Cantídio. Foram selecionados 50 pacientes alocados nos determinados grupos: doadores de fígado (G-I), cirrose por esteato-hepatite alcoólica (G-II); cirrose por hepatite B (G-III), cirrose por esteato-hepatite não alcoólica (G-IV) e cirrose criptogênica (G-V). Os dados clínico-laboratoriais e histopatológicos foram obtidos retrospectivamente por meio de revisões de laudos, prontuários e lâminas histopatológicas. Para as análises histopatológicas e imuno-histoquímicas realizou-se a confecção do *tissue microarray* com amostras de biópsias para os pacientes doadores e amostras de explantes para os pacientes cirróticos. As análises histológicas foram avaliadas através dos escores de Ishak, Brunt e NAS (*Nash activity score*). Foram selecionados os seguintes anticorpos para as análises imuno-histoquímicas: PPAR $\gamma$ , PPAR $\beta/\delta$ , HBV-core, NF- $\kappa$ B e IL-6. Neste estudo, observou-se que a maioria dos indivíduos da cirrose criptogênica apresentavam uma faixa etária em torno de 50 anos ( $\pm 17,67$ ) com predominância do sexo feminino (70%) e uma maior gravidade no escore de Child-Pugh ( $p=0,030$ ). Nos escores de Ishak e Brunt todos os grupos apresentaram grau de cirrose com uma inflamação portal e septal leve, ( $p<0,001$ ). Comparando a imuno-expressão do PPAR $\gamma$  no citoplasma dos hepatócitos, entre os grupos, verificou-se que o grupo G-V apresentou uma maior frequência ( $p=0,009$ ). Já para o anticorpo PPAR $\beta/\delta$  os grupos G-II, G-III e G-IV ( $p<0,001$ ) apresentaram maior frequência de marcação citoplasmática nos hepatócitos. O NF- $\kappa$ B mostrou-se expresso no citoplasma dos hepatócitos, principalmente no grupo G-II ( $p=0,026$ ). Quanto a IL-6 avaliada nas células de kupffer, foi verificado uma maior imuno-expressão nos grupos G-II e G-IV ( $p=0,005$ ). Já na região periportal/sinosoidal a IL-6 apresentou uma maior frequência nos grupos G-II, G-III e G-IV ( $p=0,013$ ). Na presente pesquisa, observou-se que os preditores histopatológicos não são capazes de auxiliar na classificação da doença de base da cirrose na fase avançada da doença. Na avaliação da possível relação etiológica entre a cirrose criptogênica com a esteato-hepatite e hepatite B, reconheceu-se que não houve uma relação causal. Quanto aos marcadores imuno-histoquímicos, o PPAR $\gamma$  demonstrou ser um fator de transcrição crítico para a redução da expressão da IL-6 podendo causar uma redução do infiltrado inflamatório na fase avançada da cirrose criptogênica. A ativação dos ligantes PPARs indicam um possível alvo das funções regulatórias dos mecanismos fisiológicos ligados aos metabolismos energéticos e inflamatórios que poderiam auxiliar na detecção das principais alterações visualizadas nas doenças hepáticas criptogênicas.

**Palavras-chave:** Transplante. Cirrose criptogênica. Expressão imuno-histoquímica. Receptores ativados por proliferador de peroxissoma. PPAR $\beta/\delta$ . PPAR $\gamma$ . IL-6. NF- $\kappa$ B.



## ABSTRACT

Liver cirrhosis is a clinical condition that represents the last stage common to many chronic liver diseases. In some cases, even after detailed clinical, serological and pathological study, it is not possible to clarify the underlying chronic liver disease, in these cases cirrhosis. It is said to be cryptogenic or idiopathic. The aim of this study was to evaluate the clinical, laboratory, histological and immunohistochemical parameters of cryptogenic cirrhosis in patients undergoing liver transplantation. The research was developed at Walter Cantídio University Hospital. Fifty patients were selected from the following groups: liver donors (G-I), cirrhosis due to alcoholic steatohepatitis (G-II); hepatitis B cirrhosis (G-III), nonalcoholic steatohepatitis cirrhosis (G-IV) and cryptogenic cirrhosis (G-V). Clinical-laboratory and histopathological data were obtained retrospectively through revisions of reports, medical records and histopathological slides. For histopathological and immunohistochemical analysis, tissue microarray was made with biopsy samples for donor patients and explant samples for cirrhotic patients. Histological analyzes were evaluated using Ishak, Brunt and NAS (Nash activity score) scores. The following antibodies were selected for immunohistochemical analysis: PPAR $\gamma$ , PPAR $\beta$  /  $\delta$ , HBV-core, NF- $\kappa$ B and IL-6. In this study, it was observed that the majority of individuals with cryptogenic cirrhosis wasn't is 50 years old ( $\pm 17.67$ ) with female predominance (70%) and a higher severity in Child-Pugh score ( $p=0.030$ ). In the Ishak and Brunt scores, all groups presented cirrhosis degree with mild portal and septal inflammation ( $p<0.001$ ). Comparing PPAR $\gamma$  immunoreexpression in hepatocyte cytoplasm, between groups, it was found that group G-V had a higher frequency ( $p=0.009$ ). For the PPAR $\beta/\delta$  antibody, groups G-II, G-III and G-IV ( $p<0.001$ ) presented higher frequency of cytoplasmic labeling in hepatocytes. NF- $\kappa$ B was expressed in hepatocyte cytoplasm, especially in group G-II ( $p=0.026$ ). Regarding IL-6 evaluated in kupffer cells, a higher immunoreexpression was observed in groups G-II and G-IV ( $p=0.005$ ). In the periportal / sinusoid region, IL-6 presented a higher frequency in groups G-II, G-III and G-IV ( $p=0.013$ ). In the present research, it was observed that the histopathological predictors are not able to assist in the classification of the underlying cirrhosis disease in the advanced phase of the disease. In the evaluation of the possible etiological relationship between cryptogenic cirrhosis and steatohepatitis and hepatitis B, it was recognized that there was no causal relationship. As for immunohistochemical markers, PPAR $\gamma$  has been shown to be a critical transcription factor for reducing IL-6 expression and may cause a reduction in inflammatory infiltrate in the advanced phase of cryptogenic cirrhosis. Activation of PPARs ligands indicate a possible target of the regulatory functions of physiological mechanisms linked to energetic and inflammatory metabolism that could assist in the detection of major visualized changes in cryptogenic liver diseases.

**Key-words:** Transplant. Cryptogenic cirrhosis. Immunohistochemical expression. Peroxisome proliferator activated receptor expression PPAR $\beta$  /  $\delta$ . PPAR $\gamma$ . IL-6. NF- $\kappa$ B.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1:</b> Mecanismo de ativação transcricional pelo PPAR no núcleo da célula.  | 36 |
| <b>Figura 2:</b> Atividade anti-inflamatória do PPAR- $\beta/\delta$ no fígado.   | 38 |
| <b>Figura 3:</b> Mecanismos ação e o efeito anti-inflamatórios do PPAR $\gamma$ .   | 41 |
| <b>Figura 4:</b> Organograma dos grupos de estudo e obtenção dos dados clínico-laboratoriais, 2019.   | 47 |
| <b>Figura 5:</b> Demonstração da construção dos <i>microarray de tecidos</i> , 2019.  | 49 |
| <b>Figura 6:</b> Demonstração do procedimento Imuno-histoquímico, 2019.   | 51 |
| <b>Figura 7:</b> Imuno-expressão citoplasmática do HBV-core nas células hepáticas de cirrose por HBV, Fortaleza-Ce, 2019.   | 71 |
| <b>Figura 8:</b> Imuno-expressão citoplasmática do NF- $\kappa$ B nas células hepáticas nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.       | 74 |
| <b>Figura 9:</b> Imunoexpressão citoplasmática do PPAR $\gamma$ nas células hepáticas nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.         | 74 |
| <b>Figura 10:</b> Imuno-expressão citoplasmática do PPAR $\beta/\delta$ nas células hepáticas nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019. | 74 |
| <b>Figura 11:</b> Imuno-expressão da IL-6 nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.   | 77 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1:</b> Padronização das reações de imuno-histoquímica para os respectivos anticorpos.  | 51 |
| <b>Tabela 2:</b> Alteração arquitetural de acordo com a classificação de Ishak.  | 53 |
| <b>Tabela 3:</b> Avaliação da atividade inflamatória e de necrose de acordo com a classificação de Ishak.  | 53 |
| <b>Tabela 4:</b> Avaliação da presença de esteatose associada à balonização hepatocitária e/ou infiltrado inflamatório de acordo com a classificação de Brunt.   | 54 |
| <b>Tabela 5:</b> Definição e escores de acordo com NAS “ <i>Clinical Research Network Scoring System</i> ”.  | 55 |
| <b>Tabela 6:</b> Distribuição das variáveis demográficas e comorbidades do grupo doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.  | 60 |
| <b>Tabela 7:</b> Distribuição do grupo doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, segundo a sorologia diagnóstica, Fortaleza-Ce, 2019.   | 61 |
| <b>Tabela 8:</b> Distribuição dos grupos de cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, segundo a classificação Child-Pugh e MELD, Fortaleza-Ce, 2019.  | 63 |
| <b>Tabela 9:</b> Classificação da fibrose e da atividade necroinflamatória dos indivíduos investigados, segundo a classificação Ishak, Fortaleza-Ce, 2019.   | 64 |
| <b>Tabela 10:</b> Avaliação histológica dos indivíduos investigados segundo a classificação de Brunt, Fortaleza-Ce, 2019.  | 66 |
| <b>Tabela 11:</b> Graduação das alterações histológica dos indivíduos de acordo com o escore de NAS, Fortaleza-Ce, 2019.   | 67 |
| <b>Tabela 12:</b> Análise da expressão dos anticorpos HBV-core e NF- $\kappa$ B nas amostras de TMAs nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.                              | 70 |
| <b>Tabela 13:</b> Análise da expressão imuno-histoquímica dos anticorpos PPAR $\gamma$ e PPAR $\beta/\delta$ nas amostras de TMAs nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica. Fortaleza-Ce, 2019. | 72 |
| <b>Tabela 14:</b> Análise da imuno-expressão dos anticorpos entre os grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.   | 76 |

- Tabela 15:** Distribuição dos parâmetros laboratoriais no início do diagnóstico e no pré-transplante dos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019. 80
- Tabela 16:** Avaliação dos parâmetros bioquímicos e da variação de massa corpórea entre os grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019. 84
- Tabela 17:** Avaliação dos parâmetros bioquímicos no início do acompanhamento e no pré-transplante de fígado entre os grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019. 86
- Tabela 18:** Avaliação dos parâmetros da proteína C reativa, hematológico e gasometria arterial entre os grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019. 87

## LISTA DE ABREVIATURAS

|             |   |
|-------------|---|
| Acetil- COA | Axetil coenzima A                             |
| ALB         | Albumina                                      |
| ALT         | Alanina amino Transferase                     |
| Anti- HBe   | Anticorpo anti proteína da hepatite B         |
| Anti-HBs    | Antígeno de proteína da Hepatite B            |
| AST         | Aspartato amino Transferase                   |
| BD          | Bilirrubina Dirtea                            |
| BI          | Bilirrubina Indireta                          |
| BT          | Bilirrubina Total                             |
| CA          | Cálcio Total                                  |
| CAI         | Cálcio iônico                                 |
| CC          | Cirrose criptogênica                          |
| CHC         | Cirrose hepática crônica                      |
| CHCM        | Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média |
| CMV         | Citomegalovírus                               |
| CT          | Colesterol Total                              |
| DHA         | Doença hepática álccolica                     |
| DHGA        | Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica       |
| DM          | Diabetes Méllitus                             |
| DPML        | Departamento de Patologia e medicina Tropical |
| EHNA        | Esteato Hepatite Não Alcoólica                |
| FA          | Fosfatase Alcalina                            |
| FIB         | Fibrinogênio                                  |
| GGT         | Gama Glutamil Transferase                     |
| GLIC        | Glicose                                       |
| GLOB        | Globulina                                     |
| HAS         | Hipertensão Arterial Sistêmica                |
| HAV         | Anti Hepatite A viral                         |
| HB          | Hemoglobina                                   |
| HbeAg       | Antígeno de proteína da Hepatite B            |
| HbsAg       | Antígeno de superfície da Hepatite B          |

|                     |   |
|---------------------|---|
| HBV                 | Hepatite B Viral  |
| HCM                 | Hemoglobina Corpuscular Médio                                     |
| HCC                 | Carcinoma Hepatocelular   |
| HDACs               | Histonas Deacetilases   |
| HDL                 | Lipoproteína de alta densidade                                    |
| HE                  | Hematoxilina e eosina   |
| HIV                 | Vírus da Imundeficiência Humana                                   |
| HK2                 | Hexoquinase 2   |
| HT                  | Hematócrito   |
| HVC                 | Anti Hepatite C Viral   |
| HWC                 | Hospital Walter Cantídeo  |
| IFN $\gamma$        | Interferon gama   |
| IL                  | Interleucina  |
| IL-6                | Interleucina 6  |
| IMC                 | Índice de massa corporal  |
| LAC                 | Lactato   |
| LDL                 | Lipoproteína de baixa densidade                                   |
| LEU                 | Leucócitos  |
| NAS                 | No-alcoholic fatty liver disease Activity Score                   |
| NCoR                | Receptor de Hormônio Tireoidiano                                  |
| NF- $\kappa$ B      | Fator Nuclear Kappa B   |
| NRs                 | Receptores Nucleares  |
| NPDM                | Núcleo de pesquisa e Desenvolvimento de medicamento               |
| pCO <sub>2</sub>    | Pressão parcial de gás Carbônico                                  |
| pO <sub>2</sub>     | Pressão parcial de oxigênio                                       |
| PKM2                | Piruvato quinase  |
| PLC                 | Plaquetas   |
| PPARs               | Receptores ativados por Proliferadores de Peroxissomos            |
| PPAR $\alpha$       | Receptores ativados por Proliferadores de Peroxissomos alfa       |
| PPAR $\beta/\delta$ | Receptores ativados por Proliferadores de Peroxissomos beta/delta |
| PPAR $\gamma$       | Receptores ativados por Proliferadores de Peroxissomos gama       |
| PPD                 | Tuberculina Purificada  |
| PPREs               | Elementos Responsivos aos Proliferadores de Peroxissoma           |

|              |   |
|--------------|---|
| RI           | Resistência à Insulina                  |
| ROS          | Espécies reativas de oxigênio           |
| RXR          | Ácido retinóico                         |
| SAO2         | Saturação de oxigênio                   |
| SRC          | Coativador de Receptor de Esteroide     |
| TAP          | Tempo e atividade de Protrombina        |
| TG           | Triglicerídeos                          |
| TMA          | Tissue microarray                       |
| TNF $\alpha$ | Fator de Necrose Tumoral alfa           |
| TOXO         | Toxoplasmose                            |
| TR           | Hormônio Tiroidiano                     |
| TTPA         | Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada |
| Ur           | Ureia                                   |
| VCM          | Volume Corpuscular Médio                |
| VDR          | Receptor de Vitamina D3                 |
| VDRL         | Veneral Disease Research Laroratory     |
| VLDL         | Lipoproteína de baixa densidade         |

## SUMÁRIO

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO</b>  | <b>18</b> |
| <b>1.1</b>   | <b>Disfunções crônicas do fígado</b>   | <b>19</b> |
| <i>1.1.1</i> | <i>Cirrose criptogênica</i>  | <i>19</i> |
| <i>1.1.2</i> | <i>Associação entre a Esteato-hepatite não Alcoólica e a Cirrose criptogênica</i>        | <i>21</i> |
| <i>1.1.3</i> | <i>Associação entre hepatite B viral crônica oculta e a Cirrose criptogênica</i>         | <i>22</i> |
| <b>1.2</b>   | <b>Diagnóstico da cirrose hepática</b>   | <b>23</b> |
| <i>1.2.1</i> | <i>Testes não invasivos laboratoriais: análise bioquímica da função hepática</i>         | <i>23</i> |
| <i>1.2.2</i> | <i>Análise bioquímica laboratorial da função hepática na EHNA</i>                        | <i>26</i> |
| <i>1.2.3</i> | <i>Análise bioquímica laboratorial da função hepática na HBV</i>                         | <i>27</i> |
| <b>1.3</b>   | <b>Testes laboratoriais invasivos: biopsia hepática</b>                                  | <b>28</b> |
| <i>1.3.1</i> | <i>Avaliação histológica nas hepatites virais e na esteato-hepatite não alcoólica</i>    | <i>29</i> |
| <b>1.4</b>   | <b>Principais marcadores pró-inflamatórios: IL-6 e NF-κB</b>                             | <b>32</b> |
| <b>1.5</b>   | <b>Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs) expressos no Fígado</b> | <b>34</b> |
| <i>1.5.1</i> | <i>Receptor β/δ ativado por proliferadores de peroxissomos (PPARβ/δ)</i>                 | <i>36</i> |
| <i>1.5.2</i> | <i>Receptor γ ativado por proliferadores de peroxissomos (PPARγ)</i>                     | <i>38</i> |
| <b>2</b>     | <b>OBJETIVOS</b>   | <b>42</b> |
| <b>2.1</b>   | <b>Objetivo geral</b>  | <b>42</b> |
| <b>2.2</b>   | <b>Objetivos específicos</b>   | <b>42</b> |
| <b>3</b>     | <b>MATERIAL E MÉTODOS</b>  | <b>43</b> |
| <b>3.1</b>   | <b>Desenho do estudo</b>   | <b>43</b> |
| <b>3.2</b>   | <b>População do estudo</b>   | <b>43</b> |
| <b>3.3</b>   | <b>Caracterização do grupo de estudo</b>   | <b>43</b> |



|         |  |     |
|---------|--|-----|
| 3.3.1   | <i>Ordenamento dos grupos</i>  | 43  |
| 3.3.2   | <i>Critérios de inclusão</i>   | 44  |
| 3.3.3   | <i>Critérios de exclusão</i>   | 45  |
| 3.4.    | <b>Caracterização geral das amostras</b>   | 45  |
| 3.5     | <b>Obtenção de dados clínico-laboratoriais</b>                                   | 45  |
| 3.6     | <b>Preparação do material para a pesquisa</b>                                    | 47  |
| 3.6.1   | <i>Seleção do material das biopsias</i>  | 47  |
| 3.6.2   | <i>Procedimentos analíticos</i>  | 48  |
| 3.6.2.1 | <i>Microarray de tecidos – TMA</i>   | 48  |
| 3.6.2.2 | <i>Procedimentos para a coloração hematoxilina-eosina dos TMAs</i>               | 49  |
| 3.6.2.3 | <i>Procedimento Imuno-histoquímico</i>   | 50  |
| 3.7     | <b>Análise do material</b>   | 52  |
| 3.7.1   | <i>Análise histopatológica</i>   | 52  |
| 3.7.2   | <i>Análise Imuno-histoquímica</i>  | 56  |
| 3.7.3   | <i>Análise dos dados clínicos, anatomopatológicos e bioquímicos</i>              | 56  |
| 3.8     | <b>Aspectos legais e éticos da pesquisa</b>                                      | 57  |
| 3.9     | <b>Análise estatística</b>   | 58  |
| 4       | <b>RESULTADOS</b>  | 59  |
| 4.1     | <b>Análise das principais características dos pacientes do estudo</b>            | 59  |
| 4.2     | <b>Análise da graduação histopatológica do estudo</b>                            | 63  |
| 4.3     | <b>Avaliação imuno-histoquímica do estudo</b>                                    | 69  |
| 4.4     | <b>Caracterização laboratorial do estudo</b>                                     | 78  |
| 5       | <b>DISCUSSÃO</b>   | 89  |
| 6       | <b>CONCLUSÕES</b>  | 105 |
| 7       | <b>REFERÊNCIAS</b>   | 106 |
|         | <b>APÊNDICE A – Princípios dos testes laboratoriais e valores de referências</b> | 141 |

|  |            |
|--|------------|
| <b>APÊNDICE B - Instrumento de avaliação histológica (escores de Ishak, Brunt e NAS)</b> | <b>145</b> |
| <b>APÊNDICE C - Instrumento de avaliação da imuno-histoquímica</b>                       | <b>149</b> |
| <b>ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFC</b>                         | <b>151</b> |
| <b>ANEXO B - STROBE - Checklist</b>  | <b>155</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

A cirrose hepática (CH) é uma condição clínica que representa o estágio final comum a várias doenças crônicas do fígado (MOREAU *et al.*, 2013; WIEGAND *et al.*, 2013) emergindo uma crescente taxa de morbidade e mortalidade, resultando anualmente em cerca de um milhão de óbitos em todo o mundo (WHO, 2017; JOHN, 2014; BLACHIER *et al.*, 2013; LOZANO *et al.*, 2012). A CH é um importante problema de saúde pública com alto impacto socioeconômico, apresentando uma mortalidade de 18 indivíduos para cada 100.000 habitantes com idade em torno de 35 a 54 anos (EASL, 2017; YOON, 2012; CARVALHO *et al.*, 2014). No Brasil, estima-se que a prevalência na população seja de 0,14 a 0,35%, sendo responsável por 30 mil internamentos hospitalares por ano (MOCARZEL *et al.*, 2016).

Dentre as várias etiologias existentes para justificar o surgimento de cirrose, destacam-se o alcoolismo, as hepatites virais (vírus B e C), hepatites autoimunes, drogas hepatotóxicas, doenças colestáticas, anormalidades genéticas (hemocromatose, doença de Wilson e deficiência de  $\alpha$ -1-antitripsina), doenças hepáticas gordurosas não alcoólica (DHNA) e a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) (TOWNSEND *et al.*, 2018; MANN *et al.*, 2018; MIELI-VERGANI *et al.*, 2018; VAN DER WOERD *et al.* 2017; WU *et al.*, 2015; LEFTON *et al.*, 2009; SCHUPPAN *et al.*, 2008; LIM *et al.*, 2008). A frequência de cada etiologia depende muito de cada região do mundo, sendo as hepatites virais e o alcoolismo as mais prevalentes nos países desenvolvidos (GBD, 2015; LIM *et al.*, 2008; SCHUPPAN *et al.*, 2008; LEFTON *et al.*, 2009).

O processo das alterações hepáticas podem perdurar por anos após o início da lesão, até ocorrer o desenvolvimento de descompensação hepática (FERREIRA *et al.*, 2013; KUMAR, 2013; LIDA *et al.*, 2005). Em alguns casos, mesmo após estudo clínico, sorológico e anatomopatológico detalhado, não é possível esclarecer a doença hepática crônica de base nesses casos, a cirrose é dita como criptogênica ou idiopática (CALDWELL *et al.*, 2010a; HERINGLAKE *et al.*, 2009). Não se acredita que a etiologia da cirrose criptogênica seja uma doença de base específica, mas possivelmente pode tratar-se de um estágio final de algumas doenças crônicas ocultas (CALDWELL *et al.*, 2010a). As doenças mais aceitas como possíveis causas são: a EHNA, hepatite autoimune silenciosa, hepatite por vírus ainda desconhecido e o etilismo oculto (CALDWELL *et al.*, 2010b; HERINGLAKE *et al.*, 2009).

## 1.1 Disfunções crônicas do fígado

### 1.1.1 Cirrose criptogênica

As características morfológicas que melhor correlacionam-se com as manifestações clínicas e funcionais da cirrose são os nódulos regenerativos e os septos fibrosos que podem gerar fístulas porto-hepáticas, devido ao intenso processo inflamatório crônico no fígado ao longo do tempo (XIANG *et al.*, 2017; HORIGUCHI *et al.*, 2009; LEFTON *et al.*, 2009; CRAWFORD, 2007; ANDRADE, 2005). Durante esse processo pode ocorrer uma profunda alteração da vascularização hepática e uma mudança na estrutura dos elementos celulares do fígado (MASSIMO PINZANI *et al.*, 2011; IWAKIRI, 2007). Os pacientes costumam ser assintomáticos até a fase avançada da doença, quando ocorre alguma descompensação (KIM *et al.*, 2009). Aproximadamente, cerca de 70 a 80% do parênquima encontra-se já destruído quando a lesão hepática se manifesta clinicamente, devido essas alterações serem compensadas pelo fígado (GINÈS *et al.*; 2004; BUTERWORTH, 2000).

Em consequência dessas intensas lesões nos tecidos hepáticos, independentemente da etiologia, tende a ser um processo grave e contínuo, podendo refletir uma mudança na forma clássica da doença com o desaparecimento de algumas alterações como: as infiltrações gordurosas, auto-anticorpos e marcadores virais (MONTANO-LOZA *et al.*, 2011; CZAJA, 2011; CALDWELL *et al.*, 2009). Assim, as principais características de identificação podem ser ocultas transitoriamente ou permanentemente, e a descoberta sobre sua verdadeira natureza podem exigir um período maior de observação das alterações ou depender de deduções de uma série de características não específicas. Diante dessas causas desconhecidas, muitas vezes a cirrose poderá ser classificada como “Cirrose criptogênica”, termo usado para cirroses de etiologia desconhecida (MAHESHWARI *et al.*, 2006).

Mesmo com avanços nas avaliações diagnósticas, a etiologia permanece ainda como idiopática com uma estimativa de 5 a 30% (MARMUR *et al.*, 2010; CALDWELL *et al.*, 2004; CLARK *et al.*, 2003; SAKUGAWA, 2003). Em um estudo publicado entre 1981 e 1990 mostrou que a cirrose criptogênica apresentava uma prevalência de 14 a 43% nas doenças hepáticas crônica (SAUNDERS *et al.*, 1981), mas conforme estudos realizados após a descoberta do vírus da hepatite C (HCV), essa prevalência decaiu para 10% (CALDWELL *et al.*, 2004; SAKUGA *et al.*, 2003).

A cirrose criptogênica (CC) é uma cirrose de causa “incerta”, tornando-se uma das terminologias histológicas de condição descritiva que quase sempre requer condições clínicas

e patológicas correlacionadas para chegar ao diagnóstico correto (MAHESHWARI *et al.*, 2006). Vários termos, já foram usados para descrever a CC nos pacientes, mas ainda não esclarecidos, devido a falta de critérios clínicos definitivos para as doenças específica. Por este motivo, requer uma vigilância clínica a longo prazo. Tais termos incluem “não específico”, “indeterminado” ou Cirrose “branda”, que indicam a ausência de achados relativamente mais específicos, como esteato-hepatite, lesão do trato biliar, infiltrados de células plasmáticas, folículos linfóides, ou granulomas que podem auxiliar na etiologia da doença, portanto, trata-se de um diagnóstico de exclusão (CZAJA, 2011; KODALI *et al.*, 1994).

Alguns estudos, demonstraram que os pacientes com CC apresentam anormalidades moderadas de enzimas hepáticas com predominância de incidência no sexo feminino com a idade média de 53 a 63 anos (OMAR, 2015; BROWNING *et al.*, 2004). A CC pode apresentar alterações histológicas mínimas, compatíveis com a hepatite de baixo grau, persistente e que pode progredir para cirrose apesar da eventual aparência inócua (FARIA, 2014). Existem algumas características histológicas presentes na CC, sugestivas de associação com fases avançadas de EHNA, favorecendo esta possível etiologia (CALDWELL, 2009), sendo assim, uma das causas responsáveis pelo aparecimento de cirrose criptogênica em vários locais do mundo (CALDWELL *et al.*, 2009; HERINGLAKE *et al.*, 2009; TELLEZ-AVILA *et al.*, 2008).

Powell *et al.* em 1990, estabeleceram que a EHNA pode progredir para um estado de cirrose que carece de dados histológicos mudando, assim, a sua classificação para cirrose criptogênica, e esta ligação levou a um estudo subsequente, que fortaleceu essa hipótese (POONAWALA *et al.*, 2000). Outros estudos também reforçam essa hipótese, demonstrando que as alterações histológicas da EHNA podem não ser mais identificadas no momento da biópsia hepática ou na avaliação do explante, uma vez que a cirrose já foi pré estabelecida (EL ATRACHE *et al.*, 2012; NEUSCHWANDER *et al.*, 2003; AYATA *et al.*, 2002).

Além disso, outras condições comuns são implicadas, incluindo a hepatite auto-imune silenciosa, uso de etanol oculto, hepatite viral oculta (hepatite B e C) (MCCAUGHAN, 2002; CHAN *et al.*, 2002), cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária e anormalidades no fenotipo alfa-1 antitripsina (CALDWELL, 2010b; HERINGLAKE *et al.*, 2009; AYATA *et al.*, 2002; DUCLOS-VALLÉE *et al.*, 2002).

Uma extensa avaliação deve ser realizada antes do diagnóstico definitivo da CC, incluindo: investigação de hepatites virais, condições auto-imunes, abuso de álcool, exposição

a toxinas, doenças vasculares e biliares, causas congênitas e a progressão da EHNA. Segundo estimativas, 40% dos indivíduos com cirrose são assintomáticos, cujos sinais sugestivos da doença não foram detectados por alguma razão, durante o atendimento em ambulatório ou em virtude de exames das provas hepáticas (ARROYO *et al.*, 2015; MOREAU, *et al.*, 2013). A avaliação histológica é importante e pode detectar a etiologia da doença, fornecendo informações importantes para o seu estadiamento (MERCADO-IRIZARR *et al.*, 2016).

Dessa forma, é muito importante determinar a causa específica da doença hepática, tendo em vista as complicações dos pacientes a longo prazo. Os pacientes diagnosticados com CC devem ser reavaliados periodicamente, devido as dificuldades de obtenção das características de diagnóstico (SUTEDJA *et al.*, 2004; BAERES *et al.*, 2002). A reavaliação do tecido hepático pode diagnosticar algo não estabelecido anteriormente (SUTEDJA *et al.*, 2004), e o curso da clínica pode permitir a transferência para um diagnóstico confiável em 51-77% dos casos (MARMUR *et al.*, 2010; DUCLOS-VALLEE *et al.*, 2005).

### ***1.1.2 Associação entre a esteato-hepatite não alcoólica e a cirrose criptogênica***

A DHGNA, é uma condição clínico-patológica de amplo espectro, definida pelo acúmulo anormal de triglicerídeos nos hepatócitos (CHALASANI *et al.*, 2012; VERNON *et al.*, 2011). Esse acúmulo de gordura nos hepatócitos pode causar o desenvolvimento de uma esteatose simples, sem inflamação e sem fibrose no parênquima hepático ou uma esteato-hepatite (EHNA), forma que apresenta inflamação lobular, balonização de hepatócitos, podendo evoluir para a fibrose, cirrose ou carcinoma hepatocelular em pacientes sem história prévia de etilismo. (YOUNOSSI *et al.*, 2018; VERNON *et al.*, 2011).

Os achados histológicos de EHNA, como a deposição de ácidos graxos, inflamação e necrose podem desaparecer com a progressão da doença, ocorrendo dificuldade na sua identificação (MALIK *et al.*, 2009; ONG, 2001; POONAWALA *et al.*, 2000), sendo apontada como uma das causas prováveis para o diagnóstico de CC (BUGIANESI *et al.*, 2007; POONAWALA *et al.*, 2000). Geralmente, os pacientes com CC podem ter uma relação com casos de diabetes e obesidades, semelhante aos pacientes com EHNA, tendo uma prevalência maior que nos pacientes com cirrose viral ou auto-imune (VERNON *et al.*, 2011; POONAWALA *et al.*, 2000; STRUBEN *et al.*, 2000).

A correlação entre EHNA e CC foi sugerido inicialmente por Caldwell *et al.* em 1999, que revisaram cerca de 102 casos diagnosticados com CC. Os autores observaram grande

predomínio de mulheres obesas, com diabetes mellitus e com idade avançada, sugerindo que muitos casos diagnosticados como cirrose criptogênica poderiam ser secundários a EHNA. Corroborando com estas evidências, um estudo retrospectivo caso-controle, demonstrou que a prevalência de obesidade e de diabetes é elevada em pacientes com cirrose considerada criptogênica (POONAWALA *et al.*, 2000) e essa correlação também foi apontada por um estudo subsequente por Ratziu *et al.*, em 2002.

No que diz respeito a EHNA, em particular, como uma causa oculta de CC, a perda de macroesteatose é a mudança mais marcante, dificultando a comprovação da ligação causal entre EHNA e CC, posto que há uma perda progressiva dos achados histológicos típicos da doença devido a evolução da cirrose (BUGIANESI *et al.*, 2014; CLARK *et al.*, 2003). Podendo progredir para insuficiência hepática necessitando, assim, de transplante hepático (CHALASANI *et al.*, 2012; MALIK *et al.*, 2009). Além disso, os pacientes com CC frequentemente podem vir a desenvolver EHNA após o transplante (CHALASANI *et al.*, 2012; MALIK *et al.*, 2009; POONAWALA *et al.*, 2000). Em pacientes com EHNA, a esteatose pode desenvolver-se em alguns pacientes em seis meses após o transplante e a CC em dois anos após (BURKEA e LUCEY, 2004; CONTOS *et al.*, 2001).

### ***1.1.3 Associação entre hepatite B viral crônica oculta e a cirrose criptogênica***

As hepatites criptogênicas ou hepatites não-A e não-E constituem um problema na prática clínica. Apesar do desenvolvimento de sofisticados testes laboratoriais, uma proporção significativa das hepatites ainda permanece com causa não determinada. As principais etiologias sugeridas são: vírus desconhecido ou hepatite auto-imune atípica (CODES *et al.*, 2006).

Um estudo realizado em pacientes com CC, constatou-se a frequência da infecção pelo HBV-DNA em mais de 50% dos casos, indicando uma infecção oculta pelo HBV (HONARKAP *et al.*, 2004). A frequência do HBV-DNA em pacientes com a CC pode variar dependendo da prevalência da infecção pelo HBV de cada região, da população estudada e das técnicas usadas para a sua detecção (HU *et al.*, 2002; KOMORI *et al.*, 2001).

Agarwal e colaboradores (2003) estudaram a sorologia de 111 pacientes com cirrose. Dos 18 pacientes rotulados como "criptogênicos" por testes sorológicos, o HBV-DNA foi detectado no soro de sete pacientes. De 14 pacientes nos quais tecido hepático e amostras de soro pareadas foram testados, quatro pacientes adicionais com infecção por HBV foram

detectados após a biópsia hepática. Diante disso, a prevalência relatada de soropositividade do HBV-DNA em indivíduos HBsAg-soronegativos pode variar de 12 a 61% nos pacientes com hepatocarcinoma e de 11-19% em pacientes com CC (SAID *et al.*, 2011; BRECHOT *et al.*, 2001). Portanto, é importante rastrear pacientes com CC para infecção oculta por HBV, especialmente em áreas de alta prevalência.

## **1.2 Diagnóstico da cirrose hepática**

### ***1.2.1 Testes não invasivos laboratoriais: análise bioquímica da função hepática***

As provas de função hepática são aquelas que medem a síntese de proteínas produzidas pelo fígado ou a capacidade do fígado para metabolizar drogas. A maioria dos testes normalmente utilizados mede a lesão hepatocelular, em vez da função hepática, de modo que a denominação “provas de função hepática” não é inteiramente correta, mas os padrões bioquímicos em conjunto com o quadro clínico do paciente pode auxiliar no diagnóstico das doenças hepáticas (HEIDELBAUGH e BRUDERLY, 2006; FRIEDMAN e SCHIANO, 2004; DUFOUR *et al.*, 2004; YEE *et al.*, 2002). Os principais testes sorológicos para a avaliação da função hepática são: as enzimas aspartato amino transaminase (AST), alanina amino transaminase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transferase (GGT), bilirrubinas (bilirrubina total, bilirrubina direta e bilirrubina indireta), albumina e fatores de coagulação como tempo de protrombina (TP) ou tempo de atividade da protrombina (TAP) e seu derivado índice internacional normalizado, também conhecido como razão normalizada internacional (INR) (TRIPODI *et al.*, 2009; HEIDELBAUGH *et al.*, 2006).

As lesões no fígado, podem aumentar os níveis séricos das concentrações de enzimas hepáticas, principalmente as transaminases. Essas enzimas são responsáveis em catalisar a transferência do grupo  $\alpha$ -amino para o grupo  $\alpha$ -ceto do ácido cetoglutarato para gerar oxalacetato e ácidos pirúvicos, respectivamente, que são importantes contribuintes para o ciclo do ácido cítrico (DUFOUR *et al.*, 2000). Ambas as aminotransferases são altamente concentradas no fígado, mas o aumento dos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) é mais específica para danos hepático do que a aspartato aminotransferase (AST), visto que a AST está distribuída em vários tecidos do organismo, podendo ser encontrada no coração, músculo esquelético, rins, cérebro, pulmões e glóbulos vermelhos, o que diminui a sua especificidade para a lesão hepática. Entretanto, a ALT apresenta baixas concentrações no músculo esquelético, coração e rim (AL-BUSAFI e HILZENRA, 2013; OZER *et al.*, 2008).



As aminotransferases, incluindo a ALT e a AST, são usadas com frequência na avaliação do fígado para monitorar e detectar a progressão da lesão hepatocelular (COLANTONIO *et al.*, 2012; ARAGON e YOUNOSSI, 2010; AMARAPURKA e PATEL, 2006). No fígado, a ALT é localizada apenas no citoplasma celular, enquanto que a AST é encontrada no citosol (20% da atividade total) e nas mitocôndrias (80% da atividade total) (PERRILLO *et al.*, 2002; DUFOUR *et al.*, 2000). Inicialmente os valores da AST pode apresentar níveis superiores a ALT, se a lesão persistir, os níveis da ALT tornam-se superiores aos da AST, devido o tempo de meia-vida plasmática da AST ser maior (PACIFICO *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2008). Os níveis de aminotransferase variam com a idade e os limites de referência institucionais devem ser definidos (SHIM *et al.*, 2018; KARIV *et al.*, 2006; DUFOUR *et al.*, 2000). A magnitude das alterações de aminotransferases pode ser classificado como: leve (<5 vezes do limite superior de referência), moderada (5 a 10 vezes do limite superior de referência) ou elevado (>10 vezes o limite superior de referência) (GREEN e FLAMM, 2002; PRATT e KAPLAN, 2000; GOPAL e ROSEN, 2000). A ALT constitui um excelente marcador biológico para a detecção precoce da lesão hepática. No entanto, a presença de valores elevados para esta enzima requer uma avaliação clínica associada a outros parâmetros bioquímicos e ao histórico clínico do paciente, para a obtenção de um diagnóstico mais preciso (PACIFICO *et al.*, 2013; GOBEL *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2008).

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima encontrada nas membranas de revestimento de vários tecidos, principalmente nos hepatócitos (HU *et al.*, 2019; WRIGHT *et al.*, 2007). A sua principal função está relacionada a remoção dos grupos fosfato em diferentes moléculas, incluindo proteínas, nucleotídeos e alcaloides. Geramente, a sua dosagem é utilizada para o diagnóstico de doenças hepáticas, sendo um dos principais marcadores de efeitos hepatobiliares e colestático (XIÃO *et al.*, 2014; TIAN *et al.*, 2011; LINDOR *et al.*, 2009). Nos pacientes com cirrose biliar primária, uma doença hepática colestática crônica de etiologia desconhecida, a atividade sérica da fosfatase alcalina pode estar elevada até 20 vezes em relação aos valores de referência, com ou sem níveis elevados de ALT (EASL, 2009; WRIGHT e VANDENBERG, 2007; NISHIO *et al.*, 2000).

A gama-glutamil transferase (GGT), trata-se de uma enzima encontrada nas membranas celulares, estando envolvida na transferência de aminoácidos através da membrana celular, sendo produzida no pâncreas, coração e fígado, podendo estar elevada, principalmente, quando há comprometimento desses órgãos (ASSY *et al.*, 2000). Também

está envolvida no metabolismo da glutatona atuando na transferência da fração glutamyl para uma variedade de moléculas aceitantes, incluindo água, certos L-aminoácidos e peptídeos auxiliando, assim, na preservação da homeostase intracelular (BEDOGNI *et al.*, 2006; FAN *et al.*, 2005). Embora o tecido renal tenha maiores níveis de GGT, a enzima presente no soro parece originar-se do sistema hepato-biliar e sua atividade pode estar aumentada em todas os tipos de doenças hepáticas (BEDOGNI *et al.*, 2006; FAN *et al.*, 2005).

A GGT é um teste enzimático hepático de segunda geração que se tornou comercialmente disponível a 30 anos atrás e foi usado inicialmente como um sensível marcador de inflamação hepática (MASON *et al.*, 2009). A sua elevação é observada em mais de 90% dos casos de doenças do fígado e das vias biliares representando, portanto, a alteração laboratorial mais frequente nessas patologias (YKI-JARVINEN, 2005). Níveis muito elevados são encontrados em obstrução biliar intra ou pós- hepática, câncer hepático, hepatites infecciosa e cirrose (HOCK *et al.*, 2005; FIGLIE *et al.*, 2002). Hoje, é conhecido como um marcador de alta sensibilidade utilizado como indicador de inflamação celular de lesão hepática, podendo auxiliar no diagnóstico da DHGNA (YKI-JARVINEN, 2005) e no acompanhamento dos pacientes com diabetes mellitus não insulino-dependente (ORTEGA *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2003). Também é uma enzima álcool induzida, pois os níveis aumentados de álcool no soro reflete a indução da sua atividade (VIEIRA, 2010; BORINI *et al.*, 2003; FIGLIE *et al.*, 2000). Apresenta uma meia-vida de 7 a 10 dias, mas pode apresentar uma sobrevida de 28 dias nas lesões hepáticas ligadas ao álcool (FIGLIE *et al.*, 2000; HOCK *et al.*, 2005).

A bilirrubina é um produto catabólico da hemoglobina produzida dentro do sistema reticuloendotelial, liberada inicialmente na forma não conjugada, associando-se a albumina, sendo carreada para o fígado, onde será convertida na forma conjugada (diglicuronídeo conjugado), pela enzima UDP-glucuroniltransferase (MAURO *et al.*, 2006). A bilirrubina pode ser utilizada como um marcador de lesão hepatobiliar. O nível sérico da bilirrubina indireta (não conjugada) é maior que a bilirrubina direta (cojugada) (DIANA NICOOL, 2007). Na fase aguda da lesão hepática, a bilirrubina total pode ser um importante marcador (DUFOR *et al.*, 2000). Os níveis séricos elevados de bilirrubina podem sugerir doenças no fígado e quando torna-se muito elevada pode ser visualizado uma pigmentação amarelada na pele e mucosas dos pacientes (THAPA e ANUJ, 2007; WONG *et al.*, 2004). A hiperbilirrubinemia na hepatite viral aguda é diretamente proporcional ao grau de lesão dos hepatócitos (YU-MIN *et al.*, 2019; THAPA e ANUJ, 2007).

A albumina é uma das proteínas mais abundantes no plasma, constituindo aproximadamente 50% do conteúdo total das proteínas do corpo, sendo sintetizada no fígado (EVANS, 2004). Apresenta importantes funções fisiológicas no corpo humano, sendo o principal modulador de distribuição de fluidos. De fato, cerca de 70-75% da pressão oncótica do plasma é determinada pela albumina (HENRICKSEN *et al.*, 2001). A concentração reduzida de albumina sérica, é uma característica importante na cirrose e resulta da diminuição do número de hepatócitos, podendo ser utilizada como um parâmetro de lesão hepática (BERNARDI *et al.*, 2014).

### **1.2.2 Análise bioquímica laboratorial da função hepática na EHNA**

A alteração laboratorial mais comum em pacientes portadores de EHNA é a elevação leve a moderada das aminotransferases séricas (MANOUSOU *et al.*, 2011; COTLER *et al.*, 2004). Os níveis de aminotransferases em pacientes com EHNA podem apresentar-se elevados cerca de dois a quatro vezes acima do limite superior do normal, com predomínio da ALT (NEUMAN *et al.*, 2014; CHALASANI *et al.* 2012; FRACANZANI *et al.*, 2008). Na ausência da fase avançada da doença, os testes rotineiros da função hepática são normais ou tipicamente mostram apenas elevações discretas nos níveis de aminotransferases, cerca de 1,5 a três vezes superior do limite do normal (GUNN e SHIFFMAN, 2018). Os pacientes com EHNA tendem a ter níveis mais elevados de transaminases do que pacientes com esteatose simples, mas cerca de 60% dos pacientes com EHNA podem apresentar as transaminases hepáticas normais (VERMA e JENSEN, 2013; CHALASANI *et al.*, 2012; POYNARD *et al.*, 2005).

O estudo de Verma *et al.* (2013) trabalhou com os níveis de ALT nos pacientes com EHNA e fibrose avançada. No entanto, aproximadamente um terço dos indivíduos com níveis normais de ALT apresentavam EHNA ou fibrose avançada e metade dos pacientes com níveis aumentados de ALT não apresentaram a EHNA ou fibrose avançada. Os autores concluíram que o nível de ALT é inadequado para prever a EHNA ou a fibrose avançada. No entanto, níveis elevados de ALT na ausência de outras doenças crônicas e ausência de consumo significativo de álcool pode sugerir presença de DHGNA, mas deve ser feita uma avaliação clínica adicional para a confirmação do diagnóstico (FRACANZANI *et al.*, 2008; SCHINDHELM *et al.*, 2006).

A razão AST/ALT é um parâmetro com grande utilidade no diagnóstico da doença hepática, principalmente ao nível do conhecimento da extensão da lesão e é importante no diagnóstico diferencial em relação à hepatite alcoólica, já que na EHNA este índice tenderia a ser inferior a um (CHALASANI *et al.*, 2012; ZAMIN *et al.*, 2002). Geralmente, valores de AST/ALT  $\geq 1$  estão associados a lesão severa, na qual a lesão celular se estende a mitocôndria. A associação da obesidade e do diabetes mellitus com a relação das aminotransaminases (AST/ALT) maior do que um, podem ser considerados preditores de fibrose em pacientes com EHNA (DIXON *et al.*, 2002; ZAMIN *et al.*, 2002). Além das aminotransferases, a alteração laboratorial frequentemente encontrada na EHNA é a elevação da GGT, mas não é útil para discriminar os pacientes em relação ao uso de álcool (TASNEEM *et al.*, 2018; SHAHINUL *et al.*, 2013). A fosfatase alcalina pode estar discretamente elevada em um terço dos pacientes. A albumina e a bilirrubina estão tipicamente normais, nos pacientes sem cirrose e geralmente estão alterados quando a falência hepática está estabelecida (PACIFICO *et al.*, 2013).

### ***1.2.3 Análise bioquímica laboratorial da função hepática na HBV***

As elevações espontâneas da ALT ocorrem frequentemente nos pacientes com HBV, podendo variar de acordo com a fase e os fatores etiológicos (KOZIEL e PETERS, 2007; PUOTI *et al.*, 2006; KAO *et al.*, 2001). Nos casos de hepatite viral aguda durante a fase imunoativa, os níveis de aminotransferase geralmente atinge o pico elevado antes do aparecimento da icterícia e logo após, ocorre uma diminuição gradual, e há um aumento maior nos níveis séricos de bilirrubina (FATTOVICH *et al.*, 2008). Após a soroconversão do HBeAg para anti-HBe, muitos pacientes apresentam ALT normal e uma queda dos níveis de HBV-DNA (CONJEEVARAM e LOK, 2003). A redução da replicação viral durante a soroconversão do HBeAg para anti-HBe pode estar associada também a regressão da atividade histológica inflamatória hepática e bioquímica (LOK e MCMAHON, 2007; GANEM e PRINCE, 2004; CONJEEVARAM *et al.*, 2003).

Na fase não replicativa (HBV oculto) a ALT pode encontrar-se com níveis normais (WRIGHT *et al.*, 2006; CONJEEVARAM *et al.*, 2003; GANEM *et al.*, 2004). Nesses pacientes cerca de 10% a 20% dos portadores inativos, podem apresentar fenômenos de reversão, caracterizado pelo reaparecimento do HbeAg (CHU e LIAW, 2007) e esse quadro de reversão é acompanhado usualmente de elevação da ALT em razão do processo de

reativação inflamatória do fígado (CHU e LIAW, 2007; BONINO e BRUNETTO, 2003; HADZIYANNIS e VASSILOPOULOS, 2001). Invariavelmente, estes pacientes evoluem para cirrose hepática (FUNG e LOK, 2005).

Nos pacientes com HBV crônico pode ser detectado um aumento da GGT e da FA sérica associados a altos níveis de ALT e AST, baixos níveis de albumina e fibrose avançada estando associados com o estado de cirrose hepática crônica (EMINLER *et al.*, 2014). Mas, geralmente nos portadores crônicos do HBV a ALT pode permanecer normal ou apresentar aumentos intermitentes (ESMAEELZADEH *et al.*, 2017). Portanto, a ALT não serve como parâmetro no diagnóstico diferencial sorológico após soroconversão, podendo observa níveis normais da ALT nos pacientes com HBV (LOK e MCMAHON, 2007; LAVANCHY *et al.*, 2004; CONJEEVARAM *et al.*, 2003).

### **1.3 Testes laboratoriais invasivos: biópsia hepática**

Em determinadas circunstâncias em que os resultados dos testes da função hepática apresentam elevados em relação ao limite normal, por pelo menos seis meses, devem ser observados as alterações hepáticas através da biópsia do fígado e realizar levantamentos sorológicos adicionais para uma melhor avaliação da etiologias da cirrose (HARRISON e BACON, 2005; NEIMARK *et al.*, 2004; DUFOUR *et al.*, 2000). No entanto, os métodos mencionados não são satisfatórios para o fechamento do diagnóstico, devido ser necessário muito tempo para obter alteração nos resultados clínicos, apresentando um ponto cego frequente nos exames, portanto, apresentam pouca sensibilidade para o diagnóstico (QI *et al.*, 2016).

A biópsia hepática é o exame padrão-ouro para a avaliação da fibrose hepática (Bravo *et al.*, 2001). Pode ser realizada por diferentes técnicas e tipos de agulhas. Além disso, é útil no diagnóstico de outras doenças hepáticas concomitantes, como a hepatite crônica viral e a esteato-hepatite, que impactam de maneira significativa na evolução dos casos e no manejo dos pacientes. Entretanto, a biópsia hepática é considerada um procedimento invasivo, que requer uma estrutura apropriada para a sua realização (BRASIL, 2015). Mesmo sendo uma abordagem invasiva é o exame padrão para o auxílio do diagnóstico das doenças hepáticas (XUE *et al.*, 2009; BRAVO *et al.*, 2001).

### ***1.3.1 Avaliação histológica nas hepatites virais e na esteato-hepatite não alcoólica***

A cirrose é definida histologicamente como um processo difuso no qual os lóbulos anatômicos normais são substituídos por nódulos histologicamente anormais e separados por processos de tecido fibroso (ANTHONY *et al.*, 1978). Os Sistemas de estadiamento histológico para doença hepática crônica são utilizados para caracterizar e prever a progressão da doença, determinar prognóstico e guiar as estratégias terapêuticas. Há várias escalas de estadiamento histológico, como o escore Knodell, o escore METAVIR, o escore Ishak (ou Knodell modificado), dentre outros (BEDOSSA e POYNARD, 1996; ISHAK *et al.*, 1995; KNODEL *et al.*, 1981). Eles permitem estratificar, em ordem crescente, o diagnóstico de fibrose e a atividade necro-inflamatória hepática do paciente com base em suas gravidades. Essa estratificação permite estimar o prognóstico e guiar o manejo clínico do paciente (FIEL, 2010).

O índice METAVIR é um sistema de classificação que consiste em dois escores separados – um para fibrose e um para atividade necro-inflamatória, sendo representados por um sistema de codificação composto por duas letras e dois números (BEDOSSA e POYNARD, 1996). O escore da atividade (representado por “A”) é graduado de acordo com a intensidade das lesões necro-inflamatórias (A0: sem atividade; A1: atividade leve; A2: atividade moderada; A3: atividade grave). O escore da fibrose hepática (representado por “F”) é estadiado conforme uma escala de cinco itens (F0: sem fibrose; F1: fibrose portal sem septos; F2: poucos septos; F3: septos numerosos sem cirrose; F4: cirrose hepática) (POYNARD *et al.*, 1997). Os outros modelos de pontuação como o de Knodell, modificado por Ishak e o de Scheuer também podem ser utilizados e estão baseados na definição quantitativa da progressão da fibrose, classificando-a de forma mais detalhada (ISHAK *et al.*, 1995; BATTS e LUDWIG, 1995; KNODEL *et al.*, 1991).

A cirrose quando relacionada ao sistemas de estadiamento trata-se de um diagnóstico estático que reflete o estágio final do processo de cicatrização (MANNAN *et al.*, 2014). No grupo de pacientes portadores de “cirrose”, apenas pacientes estadiados com F4 estão compreendidos. A “fibrose avançada” refere-se a um grupo de pacientes portadores de fibrose hepática grau 3 ou 4 (F3 ou F4), enquanto no grupo de “fibrose moderada” estão os pacientes cujo grau de fibrose é F2 ou F3. O diagnóstico de cirrose, baseia-se principalmente em evidências histopatológicas de estágio tardio, classificada como fibrose no estágio 4 na escala METAVIR, ou estágio 5 ou 6 no escore de Ishak (MANNAN *et al.*, 2014; ISHAK *et al.*, 1995; BATTS *et al.*, 1995; KNODEL *et al.*, 1981). Nesse contexto, uma vez que a fibrose

atinge os estágios avançados, o diagnóstico de cirrose é estabelecido (GARCIA-TSAO *et al.*, 2010).

A descrição do estadiamento simples para a doença hepática fibrótica avançada é inadequada em casos de fibrogênese, angiogênese e envolvimento extra-hepático na fase de evolução. O diagnóstico de cirrose na doença difusa como na hepatite viral ou alcoólica depende, principalmente, da evidência clínica da fibrose tardia pontuada na histopatologia. Neste contexto, em particular nas hepatites crônicas, podem ocorrer erros de amostragem no diagnóstico da cirrose (BLASCO, 2006; REGEV *et al.*, 2002). Quando utilizado os sistemas de estadiamento relacionados à “cirrose” será um diagnóstico estático que reflete o estágio final do processo da cicatrização, sem demonstrar adequadamente a complexidade da sua patogênese, da alteração funcional e hemodinâmica. Essas mudanças coletivas são fundamentais para diferenciar a transição da cirrose compensada para a cirrose descompensada, por isso, é necessário utilizar outras classificações fisiopatológica para a cirrose compensada que, deverá ser baseada nos dados clínicos e nas alterações morfológicas e funcionais, baseando-se no grau de pressão portal e na ocorrência de complicações clínicas (GARCIA-TSAO *et al.*, 2010).

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), abrange um amplo espectro de lesões histológicas variando entre a esteatose, lesão de hepatócitos, inflamação e fibrose (EKSTEDT *et al.*, 2015). Embora, tenha tido um progresso no desenvolvimento de testes não invasivos, a biópsia hepática é o único procedimento diagnóstico que pode avaliar de forma confiável essas lesões (KLEINER e BRUNT, 2012; CHALASANI *et al.*, 2012; RATZIU *et al.*, 2010). Elas permitem distinguir a esteato-hepatite de “esteatose simples” através da avaliação da extensão da atividade necro-inflamatória, fibrose e alterações arquiteturais do fígado (CHALASANI *et al.*, 2012; ANGULO *et al.*, 2002).

Não há um dado histopatológico que possa distinguir as características da doença hepática gordurosa não alcoólica dos achados da doença hepática alcoólica (DHA). Na maioria dos casos, as características histológicas da EHNA são indistinguíveis da DHA e por isso o patologista deve analisar os dados clínicos do paciente para excluir o uso do álcool como etiologia (KLEINER *et al.*, 2005).

A presença de inflamação portal na histologia de pacientes com EHNA pode sugerir associação com outras doenças, como a hepatite crônica (BRUNT e TINIAKOS, 2010). Então, para o diagnóstico, os patologistas dividem a DHGNA em esteatose hepática alcoólica (predominância da esteatose macrovesicular) e esteato-hepatite não alcoólica.

A EHNA é definida pela associação da esteatose com outras lesões hepatocelulares, essencialmente a balonização e necroinflamação (YILMAZ e YOUNOSSI, 2014; KLEINER *et al.*, 2005). As principais lesões histopatológicas para o seu diagnóstico são: esteatose predominantemente macrovacuolar, a balonização hepatocitária, infiltrado inflamatório misto com neutrófilos e corpúsculo hialino de Mallory e fibrose perisinusoidal (BRUNT 2004; BRUNT, 2001; BACON *et al.*, 1994). Os hepatócitos balonizados são amplos, com citoplasma claro, e corpos apoptóticos podem estar presentes (ZAFRANI *et al.*, 2004).

A presença de corpúsculos de Mallory, agregados intracitoplasmáticos de filamentos intermediários de citoqueratina, não é necessária para o diagnóstico da esteato-hepatite, mas podem estar presentes (REID, 2001). Inclusões eosinofílicas que, correspondem na microscopia eletrônica a megamitocôndrias com perda das cristas e inclusões paracristalinas são ocasionalmente, observadas no citoplasma dos hepatócitos (SANYAL *et al.*, 2001). Geralmente, a inflamação é mista, contendo linfócitos e neutrófilos em torno dos hepatócitos alterados ou necróticos e/ou nas áreas portais (ZAFRANI *et al.*, 2004). A intensidade da infiltração inflamatória varia com a gravidade da doença e nem todas as características da esteato-hepatite estão presentes (BRUNT, 2004).

Como todas as outras doenças crônicas do fígado, a DHGNA pode exibir um espectro contínuo de lesões histológicas e dividir a doença em categorias. Os critérios mínimos, no entanto, até hoje, ainda não são bem definidos e nenhum achado isolado na microscopia é suficiente para o seu diagnóstico (BRUNT, 2001). Portanto, um sistema de pontuação semi-quantitativo fornece uma imagem melhor do padrão histológico da doença (SIDDIQUI *et al.*, 2018).

Devido a complexidade da doença inerente e ao amplo espectro de achados, sistemas de pontuação foram concebidos para auxiliar os patologistas na avaliação da gravidade da DHGNA (BROWN e KLEINER *et al.*, 2016, FREITAS, 2005). O Comitê de Patologia da Rede de Pesquisa Clínica em EHNA, projetou e validou um sistema de pontuação com as características histológicas, que aborda todo o espectro das lesões de DHGNA, o escore de NAS (*Non-alcoholic fatty liver disease Activity Score*) (BRUNT *et al.*, 2011a).

Os parâmetros histológicos avaliados são: esteatose macrovacuolar: graduada quanto à intensidade em 0 (<5%), 1 (5-33%), 2 (33-66%) e 3 (>66%); esteatose microvacuolar: ausente (0), escassa (1) ou presente (2); balonização hepatocelular: intensidade de grau 0 a 2; inflamação acinar: graduada quanto à intensidade em 0 (ausente), 1 (<2 focos por 200x), 2 (2-4 focos por 200x), 3 (>4 focos por 200x) e do tipo mononuclear, granulocítico ou misto;



inflamação portal: intensidade de 0 a 4 e fenótipo celular mononuclear, granulocítico ou misto; fibrose: de localização perivenular, perissinusoidal, septal ou portal e de intensidade graduada de 0 a 4; estadiamento arquitetural: graduado de 0 a 4, sendo 0 a presença de esteatose pura até estágio 4, com cirrose; sobrecarga de ferro: intensidade de 0 a 4 e localizada nos hepatócitos, células de Kupffer ou ductos; corpos hialinos de Mallory-Denk: ausentes (0), escassos (1) ou abundantes (2); pseudoinclusão nuclear de glicogênio: ausentes (0), escassos (1) ou abundantes (2) (BRUNT e TINIAKOS, 2010; BRUNT *et al.*, 2004).

A pontuação é calculada como a soma não ponderada dos escores para a esteatose (0-3), inflamação lobular (0-3) e balonização hepatocelular (0-2), variando de 0 a 8. O objetivo principal do escore de NAS é avaliar as alterações histológicas ao longo do tempo, ao invés de servir como critérios diagnósticos para a EHNA (TAKAHASHI e FUKUSATO, 2014; KLEINER *et al.*, 2005). Em pacientes com DHGNA e com uma pontuação de  $NAS \geq 5$  está fortemente correlacionado com o diagnóstico de “EHNA definitivo”, enquanto  $NAS \leq 3$  correlaciona-se com o diagnóstico de “não NASH”. Embora deva correlacionar esses valores com os dados clínico-laboratoriais do paciente principalmente a resistência à insulina e as alterações dos níveis de aminotransferases (EKSTEDT *et al.*, 2015; BRUNT *et al.*, 2011a). O sistema de Pontuação da Atividade da DHGNA (NAS) não deve ser utilizado como diagnóstico substituto de EHNA, mas para a avaliação da gravidade da doença, se o diagnóstico foi estabelecido pela avaliação histológica global (BRUNT e KLEINER, 2011b; KLEINER *et al.*, 2005).

#### **1.4 Principais marcadores pró-inflamatórios: IL-6 e NF- $\kappa$ B**

A IL-6 é uma interleucina que atua como uma citocina pró-inflamatória, com ação local (efeito parácrino), sendo secretada pelo tecido adiposo, hepático e por vários outros tecidos (MATTHEWS *et al.*, 2010; TSOCHATZIS e MANDRUP-POULSEN, 2009). Além de suas ações imunorreguladoras, a IL-6 pode ser responsável em alterar a homeostase da glicose alterando o seu metabolismo mitocondrial (KRISTIANSEN *et al.*, 2005) e estimular a lipólise e a oxidação das gorduras (TARANTINO *et al.*, 2013). A liberação contínua de IL-6 pode aumentar cerca de 35% dos níveis basais de gorduras tendo, assim, uma correlação direta com a obesidade. De fato, isso pode exacerbar a resposta inflamatória, comprometer a regeneração celular e uma resistência à insulina (RI) (SCHAPER e ROSE-JOHN, 2015; AHMED *et al.*, 2012; MATTHEWS *et al.*, 2010).

Estudos em humanos associam uma forte correlação entre valores séricos da IL-6 com a esteatose, necro-inflamação e a fibrose hepática (WOLF *et al.*, 2014; TARANTINO *et al.*, 2013; DOWMAN *et al.*, 2010; PETTA *et al.*, 2009). Alguns estudos, relataram níveis de IL-6 mais elevados em pacientes com DHGNA, especialmente com estágios mais avançados da doença, em comparação com aqueles com hepatite B (TARANTINO *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2012).

Em um estudo com animais foi relato que a IL-6 age como uma citocina hepato-protetora no fígado, atuando diretamente nos hepatócitos, dificultando a disfunção mitocondrial em casos de esteatose hepática (BRAUNERSREUTHER *et al.*, 2012). Esta sinalização não só tem um efeito sobre a proliferação de hepatócitos, mas protege o fígado contra várias formas de lesão, como a isquemia, reperfusão, toxinas e álcool (Klein *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2003). A desregulação da IL-6 não só desenvolve obesidade como a hepatoesteatose e a inflamação do fígado em animais modelo (MATTHEWS *et al.* 2010).

A administração de anticorpos anti-IL6 em camundongos obesos observou-se um aumento da sensibilidade a insulina estabelecendo a IL-6, como um dos biomarcadores mais importante para a DHGNA (MAHMOUD *et al.*, 2012). O acúmulo de ácidos gordos nos hepatócitos ativam o NF- $\kappa$ B, um fator de transcrição que desempenha um papel central na coordenação da expressão de várias citocinas pró-inflamatórias, incluindo a IL-6 (TARANTINO *et al.*, 2013).

Entre os fatores de transcrição que controlam a expressão gênica inflamatória, o NF- $\kappa$ B desempenha um papel na coordenação da expressão de vários meios pró-inflamatórios solúveis (citocinas e quimiocinas) de adesão leucocitária. Em células não estimuladas, o NF- $\kappa$ B é sequestrado no citosol pelo seu inibidor (I $\kappa$ B), que mascara o sinal de localização nuclear presente ao longo da sequência da proteína NF- $\kappa$ B (HOFFMANN *et al.*, 2006). A degradação do I $\kappa$ B permite, assim, que o NF- $\kappa$ B se transloque para o núcleo, atuando como um fator de transcrição que irá regular positivamente a produção e a secreção de IL-6 (CAI *et al.*, 2005).

Os membros da família NF- $\kappa$ B exibem homologia estrutural com a oncoproteína retroviral v-Rel, resultando na sua classificação como proteínas NF- $\kappa$ B/Rel (GILMORE, 2006). Existem cinco subfamílias de proteínas na família NF- $\kappa$ B (p50/NF- $\kappa$ B1, p52/NF- $\kappa$ B2, p65/RelA, p68/RelB e p75/c-Rel) que, por ligação entre si, podem formar uma variedade de heterodímeros e homodímeros que irão regular os genes envolvidos na imunidade, inflamação e sobrevivência celular (VALLABHAPURAPU e KARIN, 2009). Algumas evidências

indicam que a ativação do NF- $\kappa$ B desempenha um papel crítico na inflamação do tecido adiposo na obesidade (BAKER *et al.*, 2011; HOLLAND *et al.*, 2011; LI *et al.*; 2010). Além disso, alguns estudos em roedores com EHNA mostraram uma maior atividade do NF- $\kappa$ B no desenvolvimento de esteatose, inflamação e RI (DELA PEÑA *et al.*, 2005; ROMICS *et al.*, 2004). E sob condições de inflamação excessiva e a ativação do metabolismo lipídico, a lesão pode evoluir para esteato-hepatite. O NF- $\kappa$ B pode ser evidenciado em amostras de biópsias hepáticas de pacientes com EHNA (RIBEIRO *et al.*, 2004). Por outro lado, a interferência na translocação do NF- $\kappa$ B melhora a esteatose, a inflamação e a RI no fígado (DELA PEÑA *et al.*, 2005; LOCATELLI *et al.*, 2004).

### **1.5 Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs) expressos no fígado**

Os receptores nucleares (NRs) são fatores de transcrição que podem ser ativados por ligantes, atuando nos processos fisiológicos através da regulação da expressão de genes-alvo (OLEFSKY, 2001; CHAWLA *et al.*, 2001). Em humanos, a superfamília de receptores nucleares é composta por 48 membros, destacando-se entre eles, os receptores de esteróides, do hormônio tireoideano (TR), da vitamina D3 (VDR), do ácido retinóico (RXR) e os receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (*Peroxisome proliferator activated receptor*- PPARs) (BRIDGHAM *et al.*, 2010; NOVAC e HEINZEL, 2004).

Os PPARs são responsáveis por reações de oxidação ligadas ao metabolismo energético, participando como sensores metabólicos, promovendo importantes efeitos em diversos processos fisiológico (WAHLI, 2002). De acordo com os sinais lipídicos, atuam na expressão gênica, promovendo ações adaptativas relacionadas a homeostase lipídica e energética, atuando principalmente na oxidação de ácidos graxos, diferenciação de adipócitos e sensibilidade à insulina (WAHLI, 2012; SHEN, *et al.*, 2006; KERSTEN *et al.*, 2000).

Os fatores de transcrição PPARs estão presentes no núcleo da célula e são ativados por ligantes naturais ou sintéticos (WAHLI, 2012). Os ligantes naturais do PPAR, são sensores lipídicos capazes de modular processos críticos para a homeostase energética e exercem suas funções na forma de heterodímeros com o receptor de retinóide X (RXR) (AHMADIAN *et al.*, 2013). Os ligantes naturais de PPARs incluem ácidos graxos saturados e insaturados, que podem servir de substratos enzimáticos para a geração de seus derivados com atividade agonista sobre esses receptores, como as prostaglandinas e leucotrienos (BERGER;

MOLLER, 2002). A produção dos ligantes naturais pode ser influenciada tanto por condições fisiológicas (alimentação, privação de alimentos e exercício) quanto por condições patológicas e fisiológicas (inflamação crônica, diabete e aterosclerose) (MICHALIK *et al.*, 2006; BERGER; MOLLER, 2002). Assim, os PPARs podem influenciar a expressão gênica direta ou indiretamente, através da competição com outros fatores de transcrição (CUNARD *et al.*, 2004), entretanto, também modulam a atividade de genes envolvidos na regulação de energia e processos inflamatórios (AHMADIAN *et al.*, 2013; WAHLI, 2012).

Os PPARs podem exercer seus efeitos regulatórios sobre a transcrição gênica por transativação ou transrepressão. No primeiro mecanismo, os PPARs podem ativar a transcrição de maneira dependente do ligante pela ligação específica aos PPREs (elementos responsivos aos proliferadores de peroxissoma), situados em sítios regulatórios de cada gene, formando o complexo heterodimérico PPAR-RXR nos genes-alvo (ROSEN e SPIEGELMAN, 2001).

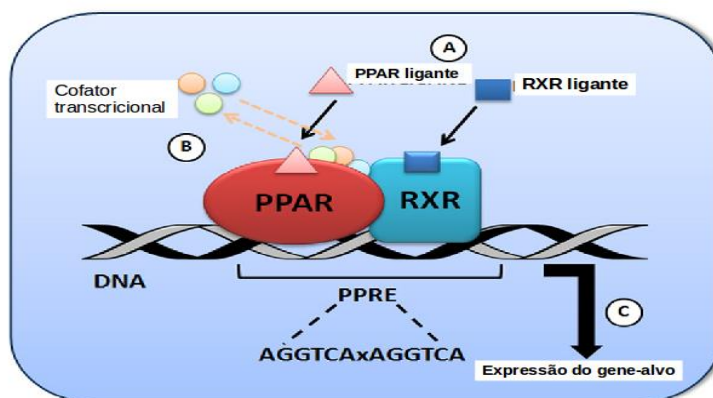
O receptor liga-se ao PPRE como um heterodímero, juntamente com um fator proteico adicional, o receptor do ácido 9-cis retinóico (RXR). Na presença do seu agonistas, o PPAR recruta coativadores, causando uma mudança conformacional no receptor, dissociando o complexo correpressor, resultando em aumento na transcrição gênica (AMATO, *et al.*, 2012; GUSMÃO, 2008; GRONEMEYER, *et al.*, 2004). O conjunto repressor é desacoplado a partir do complexo PPAR-RXR, seguindo-se do recrutamento de proteínas coativadoras, tais como o coativador de receptor de esteróide (SRC) e a proteína de ligação ao PPAR (PBP), entre outras (FATTORI *et al.*, 2014). O complexo coativador promove modificações nas histonas (acetilação de histonas) e na estrutura da cromatina de modo, a permitir o desenovelamento do DNA, o que facilita o acesso e a interação do complexo heterodimérico ao elemento responsivo do PPAR (PPRE), com a consequente ativação de genes específicos (FATTORI *et al.*, 2014; RICOTE e GLASS, 2007; BERGER *et al.*, 2002; CHAWLA *et al.*, 2001).

Na ausência de substâncias agonistas, a ativação da transcrição é reprimida pela ligação de proteínas correpressoras ao complexo PPAR-RXR, bloqueando assim, a transcrição (FATTORI *et al.*, 2014). As proteínas corepressoras incluem, o receptor nuclear (NCoR) ou o mediador de silenciador de RXR e receptor de hormônio tireoidiano (SMRT). Essas proteínas têm função de desacetilação de histonas (HDACs – Histonas Deacetilases), ou agem recrutando proteínas que detêm essa ação, podendo ainda possuir outras atividades enzimáticas que, em conjunto, possam manter a cromatina em sua forma enovelada, o que

impede a ligação do receptor e da maquinaria transcricional ao DNA, conforme visualizado na Figura 1 (FATTORI *et al.*, 2014; ROSENFELD *et al.*, 2006; BERGER *et al.*, 2002).

Dentro da subfamília dos PPARs, já foram caracterizadas três subtipos de proteínas, codificadas por genes distintos, sendo estes o PPAR $\alpha$  (NR1C1), PPAR $\delta/\beta$  (NR1C2) e PPAR $\gamma$  (NR1C3) (AHMADIAN *et al.*, 2013; MICHALIK *et al.*, 2002). O PPAR $\alpha$  foi o primeiro membro da subclasse dos PPARs a ser identificado por Issemann e Greenem 1990. Em 1992, Dreyer e colaboradores identificaram os outros dois PPARs. Os três subtipos de receptores estão presentes na maioria dos tecidos embora, apresentem padrões de expressão tecidual específico, sendo expressos de forma variável entre os diferentes órgãos (CUZZOCREA, 2006).

**Figura 1** - Mecanismo de ativação transcricional pelo PPAR no núcleo da célula.



(A) Ligação específica de PPAR/RXR; (B) Alterações nos cofatores transcripcionais associados; (C) Ativação do complexo transcricional. Este mecanismo requer a liberação do complexo co-repressor (atividade de acetilase da histona), feito por um ligante, e o recrutamento de complexo co-ativador (atividade acetiltransferase). O complexo PPAR-RXR ativado liga-se ao PPRE, produzindo uma alteração na estrutura da cromatina, originando uma estrutura transcricionalmente competente. Fonte: Rigano *et al.* (2017, adaptado).

### 1.5.1 Receptor $\beta/\delta$ ativado por proliferadores de peroxissomos (PPAR $\beta/\delta$ )

O PPAR beta/delta ( $\beta/\delta$ ) tem uma ampla expressão no organismos humano, com funções importantes principalmente no músculo esquelético, tecido adiposo, pele, intestino, cérebro e fígado, atuando nas atividades ligadas a adaptação metabólica dos tecidos em resposta a alterações ambientais (CAVE *et al.*, 2016; NAGASAWA *et al.*, 2006; MICHALIK *et al.*, 2006). Alguns estudos indicam que a ativação do PPAR $\beta/\delta$  exerce efeitos regulatórios no catabolismo de ácidos graxos, no transporte reverso do colesterol e no metabolismo energético, causando redução dos níveis da lipoproteína de baixa densidade (Low density

lipoprotein – LDL), dos triglicerídeos, termogênese e redução de peso (ZHANG *et al.*, 2017; VÀZQUEZ, 2016; POULSEN *et al.*, 2012). No fígado pode ser expresso principalmente pelas células estreladas hepáticas, células endoteliais sinusoidais, pelos macrófagos (células de Kupffer) e nos hepatócitos (CAVE *et al.*, 2016; TAILLEUX *et al.*, 2012; NAGASAWA *et al.*, 2006).

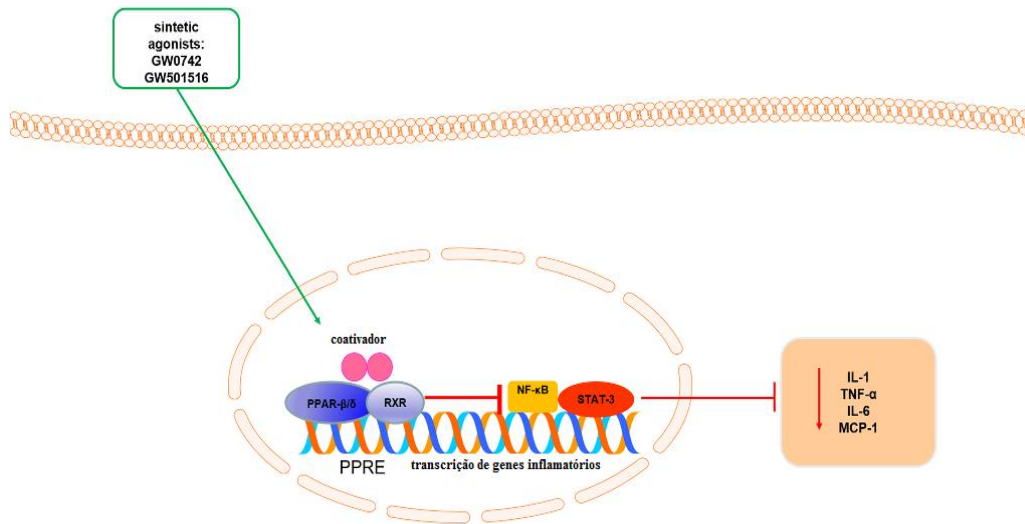
No tecido hepático de camundongos com PPAR $\beta/\delta$  nulo, o perfil transcricional revelou uma regulação negativa dos genes associados ao metabolismo da lipoproteína, e das vias de utilização da glicose, indicando que esses genes, são regulados positivamente pelo PPAR $\beta/\delta$ . Por outro lado, os genes envolvidos na imunidade inata e na inflamação foram supra-regulados. Essas alterações em camundongos (PPAR $\beta/\delta$ -nulo), correlacionaram-se com o aumento dos níveis plasmáticos de glicose e triglicérides, e reduziram os níveis plasmáticos do colesterol (SANDERSON *et al.*, 2010).

Liu e colaboradores (2011) demonstraram que a super-expressão do PPAR $\beta/\delta$  nos hepatócitos reduzia os níveis de glicose em jejum em camundongos com dieta hipercalórica. Também foi relatado, um aumento na deposição de glicogênio e lipídios hepáticos, acompanhada de uma regulação positiva da utilização de glicose e da lipogênese. Também, observou-se um aumento da produção de ácido graxo monosaturados nos hepatócitos, causando a ativação dos macrófagos residentes no fígado, resultando, no aumento da ativação do PPAR $\beta/\delta$  e redução da expressão dos marcadores inflamatórios como o TNF- $\alpha$  ou interferon gama (IFN- $\gamma$ ), causando alterações na resposta imunológica (LIU *et al.*, 2011). O PPAR $\beta/\delta$  e seus ligantes também estão supostamente associados a atividades anti-inflamatórias através da interferência com o fator NF- $\kappa$ B (WAHLI *et al.*, 2012; DING *et al.*, 2006; RIVAL *et al.*, 2002).

O PPAR $\beta/\delta$  pode ocasionar a oxidação dos ácidos graxos, auxiliando na desintoxicação lipídica reduzindo a gravidade da esteatose hepática (HORIKE *et al.*, 2008; NARKAR *et al.*, 2008, QIN *et al.*, 2008). Algumas evidências relatam que o PPAR $\beta/\delta$  pode auxiliar na regulação da expressão do receptor VLDL nos hepatócito (ZAREI *et al.*, 2018). Foi observado um aumentado do receptor de VLDL em modelos de ratos com PPAR $\beta/\delta$  nulo na fase pré-clínica, e nos resultados da fase clínica as amostras de biópsias hepáticas de pacientes com esteatose moderada e grave foram observados níveis aumentados dos receptores de VLDL e níveis reduzidos do PPAR $\beta/\delta$ . Esses achados, demonstraram que os níveis dos receptores de VLDL podem ser controlados pelo PPAR $\beta/\delta$ , afetando o desenvolvimento da esteatose hepática (ZAREI *et al.*, 2018).

Comparado com PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$ , menos se sabe sobre PPAR $\beta/\delta$  em relação a obesidade e DHGNA (VIDELA *et al.*, 2012). No entanto, para a atividade lipogênica foi demonstrado que ambos os receptores PPAR $\beta/\delta$  e PPAR $\alpha$  eram necessários para a redução do tecido adiposo, impulsionado pelo agonista do PPAR $\beta/\delta$ , e subsequentemente o desenvolvimento de esteatose hepática (GARBACZ *et al.*, 2015).

**Figura 2** - Atividade anti-inflamatória do PPAR- $\beta/\delta$  no fígado.



Esquema resumindo a atividade anti-inflamatória do PPAR- $\beta/\delta$  no fígado: As setas verdes indicam a ativação, e a linha vermelha indica inibição. O PPAR- $\beta/\delta$  liga-se especificamente no RXR; ocorrendo a ativação do complexo transcrional. Tendo, assim, a capacidade de regular várias vias importantes no fígado, como homeostase lipídica, inflamação (IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e MCP-1) e auxiliar na inibição da resistência à insulina, desempenhando um papel importante na regulação metabólica. Fonte: Silva e Peixoto (2018, com adaptações).

### 1.5.2 Receptor $\gamma$ ativado por proliferadores de peroxissomos (PPAR $\gamma$ )

O PPAR gama ( $\gamma$ ), é expresso em tecido adiposo branco, fígado, coração, cólon, intestino delgado e grosso, rins, pâncreas e baço, sendo caracterizado como um fator de transcrição que regula a expressão gênica na adipogênese, induz a diferenciação dos pré-adipócitos, sendo envolvido na homeostasia da glicose e sensibilização à insulina (WATANABE *et al.*, 2015; NIJLAND *et al.* 2014; TONTONOZ *et al.*, 2008).

O PPAR $\gamma$  é transcrito por um único gene, o uso do seu promotor diferencial e o processamento alternativo dos produtos do gene PPAR $\gamma$  geram quatro RNA mensageiros (mRNAs) - PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2, PPAR $\gamma$ 3 e PPAR $\gamma$ 4 (APRILE *et al.*, 2014; ASTARCI e SIERSBAEK, 2009). As isoformas PPAR $\gamma$ 1 e PPAR $\gamma$ 2 são altamente expressas em tecidos

adiposos branco e marrom, onde o receptor governa a diferenciação de adipócitos e o armazenamento de lipídios. O PPAR $\gamma$ 1 é também expresso no cérebro, células vasculares, cólon e células imunes (MEDINA-GOMEZ *et al.*, 2007; MICHALIK *et al.*, 2006; SABATINO *et al.*, 2005). O PPAR $\gamma$ 3 parece ser a isoforma predominante nos macrófagos e a forma PPAR $\gamma$ 4 não é muito conhecida, porém foi relatada a sua presença no tecido adiposo (APRILE *et al.*, 2014; VARGA *et al.*, 2011).

O PPAR $\gamma$  está interligado a importantes processos biológicos que vão desde a regulação do metabolismo, diferenciação a inflamação, sendo associado a várias doenças, incluindo o câncer (POLVANI *et al.*, 2014; SUGII e EVANS, 2011). A maior expressão do PPAR $\gamma$  ocorre no tecido adiposo, sendo considerado a chave para a cascata de transcrição e diferenciação dos adipócitos possuindo, assim, um papel central na integração do controle energético, do metabolismo de glicose e lipídeos (POULSEN *et al.*, 2012; WILLSON *et al.*, 2001).

A ativação do PPAR $\gamma$  favorece a formação de pequenos adipócitos que tendem a substituir os grandes adipócitos que, normalmente constituem o tecido adiposo branco (HELENIUS *et al.*, 2009). A maior expressão do PPAR $\gamma$ , ocorre após as refeições e a sua ativação leva a expressão de genes que promovem a captação, armazenamento e metabolismo de ácidos graxos, com lipase lipoproteica, acetil coenzima A (acetil-CoA), proteínas transportadoras de ácidos graxos e fosfoenol piruvato carboxiquinase (WOLF GREENSTEIN *et al.*, 2017). Ele, também, reprime genes que induzem a lipólise e a liberação de ácidos graxos livres em adipócitos. Além disso, o PPAR $\gamma$  diminui a expressão de leptina, uma molécula sinalizadora produzida pelo adipócito, o que causa um aumento na ingestão e otimização do uso de energia, contribuindo para os efeitos adipogênicos do PPAR $\gamma$  (SHARMA *et al.*, 2007; EVANS *et al.*, 2004).

Alguns autores demonstraram que a expressão do PPAR $\gamma$  específico nos hepatócitos promove diretamente o acúmulo de gordura hepática, aumentando a captação lipídica e promovendo a lipogênese (ZHANG *et al.*, 2006; GAVRILOVA *et al.*, 2003). Além disso, o PPAR $\gamma$  desempenha um importante papel no metabolismo da glicose, regulando a expressão da hexoquinase 2 (HK2) e da isoforma M2 do piruvato quinase (PKM2), resultando em esteatose hepática maciça em modelos de camundongos (PANASYUK *et al.*, 2012).

A ativação do PPAR $\gamma$  pode causar efeitos benéficos no organismo, tais como: aumento da gliconeogênese no fígado, estímulo na secreção de insulina no pâncreas, causa a sensibilização a insulina no músculo esquelético e aumenta o metabolismo de lipídeos, mas



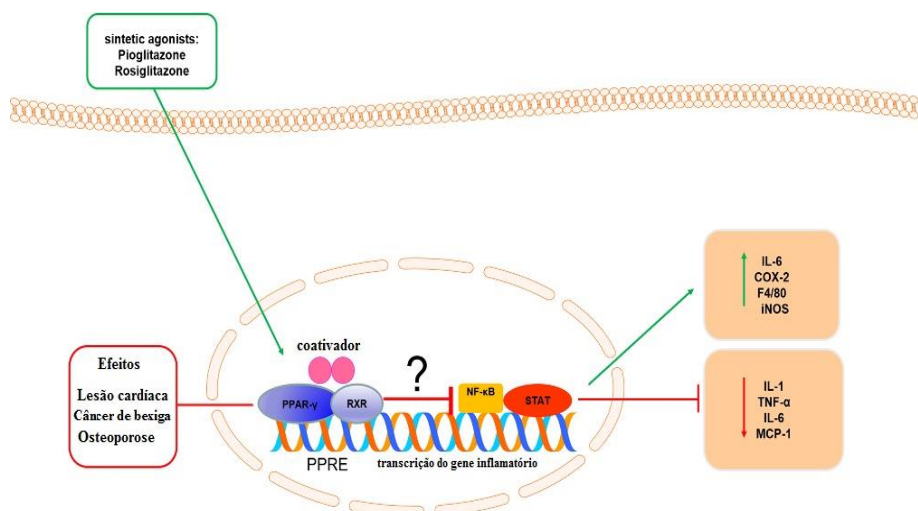
também pode causar efeitos maléficos, tais como a retenção de líquidos, a descalcificação óssea, crescimento do coração, acúmulo de lipídeos no fígado e coração e aumento da adipogênese, gerando ganho de peso (AHMADIAN *et al.*, 2013).

O PPAR $\gamma$  medeia os efeitos anti-inflamatórios através de vários mecanismos, incluindo a transrepressão levando a uma interferência entre o PPAR $\gamma$  e fatores transcricionais que levam a inibição da respostas pró-inflamatórias mediada pelas vias de IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-12 (HOU *et al.* 2014; HOU, *et al.*, 2012; MALCHOW *et al.*, 2012). Essa transrepressão também pode ser mediada pela ligação do PPAR $\gamma$  a complexos coativadores, que irão inibir a expressão gênica pró-inflamatória dependente de NF- $\kappa$ B (HOESEL e SCHMID, 2013; RAMOS *et al.*, 2010). Além disso, o PPAR $\gamma$  também pode suprimir o gene pró-inflamatório de expressão, impedindo a remoção de corepressores da região promotora de NF- $\kappa$ B e dos fatores de transcrição pró-inflamatórios (PASCUAL *et al.*, 2005). O TNF- $\alpha$  é um dos responsáveis pela resistência à insulina, já que as citocinas estão relacionadas ao processo de inflamação, a sensibilização a insulina e a obesidade (FORYST-LUDWIG *et al.*, 2010; ARANDA *et al.*, 2001). O TNF- $\alpha$  pode induzir oxidantes mitocondriais e, assim, exacerbar a DHGNA, atenuando os efeitos anti-inflamatórios da adiponectina e PPAR $\gamma$ , causando uma inflamação secundária e desenvolvimento de fibrose (KANURI *et al.*, 2013; MOSCHEN *et al.*, 2012; TOMARU *et al.*, 2009).

Em alguns estudos com modelos de animais obesos associados a esteatose foi observado um aumento da expressão hepática de PPAR $\gamma$  no fígado, principalmente da isoforma PPAR $\gamma$ 2 (RAHIMIAN *et al.*, 2001; MEMON *et al.*, 2001). O aumento da expressão do gene PPAR $\gamma$ 2, também está correlacionado positivamente com a esteatose hepática em pacientes obesos (PETTINELLI e VIDELA, 2011; WESTERBACKA *et al.*, 2005). Na regulação do PPAR- $\alpha$  em casos de pacientes obesos com esteatose hepática e resistência insulínica, foi observado processos de ativação da lipogênese e oxidação lipídica; mas este efeito agravou-se com o aumento da expressão do PPAR $\gamma$  (TYAGI *et al.*, 2011).

A expressão do PPAR $\gamma$  nas células hepáticas e nas células de kupffer, pode transmitir propriedades anti-inflamatórias e anti-fibrinogênicas no fígado (GUPTE *et al.*, 2010; TSUKAMOTO *et al.* 2008). Porém, a sua deficiência pode ocasionar uma formação excessiva de tecido fibrótico e uma resistência a insulina, ocasionando uma progressão da doença hepática (ZHANG *et al.*, 2017; SOUZA-MELLO, 2015; HALL *et al.*, 2014).

**Figura 3** - Mecanismos de ação e o efeito anti-inflamatórios do PPAR $\gamma$ .



Esquema resumindo da atividade do PPAR $\gamma$  no fígado: As setas verdes indicam a ativação, e a linha vermelha indica inibição. Os ligantes de PPAR $\gamma$  positivo, podem inibir as atividades do NF- $\kappa$ B e STAT-1 dentro das células. No local da inflamação, inibe a ativação de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1 e TNF- $\alpha$ ) e quimiocinas (MCP-1), mas uma ligação positiva pode induzir mediadores vasoativos (sintase induzida do óxido nítrico; iNOS) e mediadores inflamatórios (COX-2, F4/80 e IL-6). Fonte: Silva e Peixoto (2018, com adaptações).

Diante do exposto, a cirrose criptogênica é uma cirrose de causa incerta compatíveis principalmente com o etanol, hepatite viral e a esteato-hepatite não alcoólica. Mesmo com avanços nas avaliações diagnósticas, a etiologia pode permanecer ainda como idiopática, sendo muito importante determinar a causa específica da doença, tendo em vista as complicações dos pacientes a longo prazo. Portanto, verifica-se a importância de averiguar os diagnósticos laboratoriais e histológicos da cirrose criptogênica comparando-a com a cirrose por esteato-hepatite e a cirrose por HBV. No intuito de relatar uma associação a estas doenças de base. Além disso, os dados acima descritos indicam uma importante participação dos PPARs no desenvolvimento dos processos necro-inflamatórios e fibróticos associados a cirrose crônica e sugerem, uma possível participação nas ações da cirrose criptogênica.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar os parâmetros clínico-laboratoriais, histológicos e imuno-histoquímicos da cirrose criptogênica em pacientes submetidos ao transplante de fígado.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Verificar as alterações laboratoriais e histopatológicas dos pacientes com cirrose criptogênica comparando-a com a esteato-hepatite e a hepatite B viral;
- Analisar o padrão da imuno-expressão do PPAR $\gamma$ , PPAR $\beta/\delta$ , NF- $\kappa$ B e IL-6 nos pacientes diagnosticados com a esteato-hepatite e hepatite B viral em relação a cirrose criptogênica;
- Determinar os padrões de imuno-expressão dos ligantes PPAR $\gamma$  e PPAR $\beta/\delta$ , bem como a IL-6 e o NF- $\kappa$ B nos pacientes diagnosticados com cirrose criptogênica.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Desenho do estudo**

A pesquisa constituiu-se em um estudo retrospectivo transversal observacional, desenvolvida no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC). Para a pesquisa, realizou-se um levantamento de dados através dos prontuários para a obtenção das informações clínicas, laboratoriais, características macroscópicas e microscópicas e laudos anatomopatológicos dos pacientes contidos nos arquivos do HUWC e do Departamento de Patologia e Medicina Legal (DPML). Para as amostras, utilizaram-se explantes e biópsias arquivados no DPML da Universidade Federal do Ceará (UFC).

### **3.2 População do estudo**

Pacientes submetidos ao transplante hepático no Hospital Universitário Walter Cantídio (UFC) durante os anos de 2010 a 2016.

### **3.3 Caracterização do grupo de estudo**

Para o estudo foram selecionados pacientes doadores de fígado e pacientes submetidos ao transplante de fígado diagnosticados com cirrose hepática alcoólica, cirrose por hepatite B, cirrose por esteatose hepática não alcoólica e cirrose hepática criptogênica. Foram considerados como casos de cirrose criptogênica aqueles em que a investigação prévia para as hepatopatias atualmente conhecidas resultava-se como negativas através da pesquisa clínica e patológica dos principais fatores etiológicos baseado na classificação clinico-patológica proposta para a cirrose criptogênica descrito na literatura (CALDWELL, 2010; DUCLOS-VALLEE *et al.* 2005; AYATA *et al.* 2002; BERG *et al.* 2002; CONTOS *et al.* 2001)

#### **3.3.1 Ordenamento dos grupos**

Após a seleção inicial dos pacientes baseada nos arquivos de biópsias do DPML e das informações dos resultados clínicos, laboratoriais e histopatológicos, os pacientes foram alocados em grupos, de acordo com as características hepáticas de base.

**Grupo I (G-I):** Doadores de fígado;

**Grupo II (G-II):** Cirrose por álcool;

**Grupo III (G-III):** Cirrose por HBV;

**Grupo IV (G-IV):** Cirrose por esteatose hepática não alcoólica;

**Grupo V (G-V):** Cirrose Criptogênica.

### 3.3.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos os pacientes acompanhados pelo HUWC que apresentavam amostras de biópsias (G-I) e explantes (G-II, G-III, G-IV e G-V) em blocos de parafina, durante o período de 2010 a 2016, classificados de acordo com os critérios expostos a seguir:

- Doadores de fígado – Avaliação clínica, laboratorial e histopatológica normal.
- Cirrose hepática – definida por análise histopatológica e por associação de dados clínico-laboratoriais.

Dentre os pacientes que satisfizeram os critérios para cirrose, foram incluídos no trabalho apenas os pacientes com hepatopatia crônica de base, diagnosticados com:

- Esteato-hepatite alcoólica - aceitando-se para este diagnóstico história positiva de consumo de álcool, alterações clínico-laboratoriais compatíveis com o diagnóstico de esteato-hepatite alcoólica, confirmados pela análise histopatológica e registrados nos prontuários.
- Hepatite B – aceitando-se para este diagnóstico o exame sorológico positivo para o HBsAg pelo método imunoenzimático (ELISA), alterações clínico-laboratoriais compatíveis com o diagnóstico de HBV e confirmados pela análise histopatológica e registrados nos prontuários.
- Esteatose hepática não alcoólica - história negativa de consumo de álcool, alterações clínico-laboratoriais compatíveis com o diagnóstico de EHNA, confirmados pela análise histopatológica e registrados nos prontuários.
- Criptogênica – Definida por análise histopatológica e por diagnóstico de exclusão. Portanto, devia constar no prontuário história negativa para: consumo de álcool; AIDS; insuficiência cardíaca congestiva; tuberculose; doenças pulmonares obstrutivas crônicas; drogas hepatotóxicas ou hepatotoxinas; doença de Wilson; hemocromatose; hepatite viral; hepatite autoimune; cirrose biliar primária e cirrose por deficiência de  $\alpha$ 1-anti-tripsina.

### **3.3.3 Critérios de exclusão**

Foram excluídos da pesquisa os pacientes com causas de cirrose associados a cânceres primários do fígado ou colangiocarcinoma. Também, foram excluídos os casos cujos materiais biológicos nos blocos de parafina não apresentavam condições para o estudo, como amostras insuficientes e fixação inadequada.

### **3.4 Caracterização geral das amostras**

A primeira etapa para a seleção dos pacientes constou-se de um levantamento de pacientes não cirróticos (G-I) e cirróticos (G-II, G-III e G-IV) contidos nos arquivos do DPML. Para a pesquisa foram selecionados, inicialmente 74 pacientes consecutivos que preenchem os critérios necessários para o estudo. Em alguns casos, não foram localizados os blocos de parafina nos arquivos do DPML e alguns pacientes careciam de dados necessários para a pesquisa, por isso, durante a análise de determinadas variáveis, o número de pacientes analisados apresentou-se inferior ao número total de pacientes alocados em cada grupo. Nenhum paciente foi biopsiado para fins deste estudo.

Para os pacientes doadores de fígado (G-I) foram selecionadas amostras provenientes de materiais de biópsias por punção aspirativa, em cunha. Já para os pacientes com cirrose por álcool (G-II), cirrose por HBV (G-III), cirrose por EHNA (G-IV) e cirrose criptogênica (G-V) foram selecionados casos consecutivos de cirrose hepática crônica (CHC), oriundos de fígados cirróticos, provenientes de produtos de ressecção cirúrgica de hepatectomia total (explante).

A população final do estudo consistiu-se, portanto, em 50 pacientes, alocados nos determinados grupos; obtendo 07 amostras de doadores de fígado (G-I), 03 amostras com esteato-hepatite alcoólica (G-II); 10 amostras de cirrose por HBV (G-III), 07 amostras de cirrose por esteato-hepatite não alcoólica (NASH, G-IV) e 23 amostras com cirrose criptogênica, G-V (FIGURA 4). Em seguida, foi realizada uma revisão de prontuário, para garantir a correlação clínica pré-estabelecida de cada grupo com o histopatológico.

### **3.5 Obtenção de dados clínico-laboratoriais**

Os dados clínicos-laboratoriais foram obtidos retrospectivamente por meio de revisão de laudos e resumos de prontuários contidos nos arquivos do HUWC. Dentre os resultados

clínicos, foram anotados dados como: idade (na época da biópsia); raça; sexo; peso; altura; índice de massa corporal (IMC); uso abusivo de álcool/drogas, doenças associadas como a hipertensão arterial sistêmica- HAS e/ou diabetes mellitus tipo 2 - DM).

Em relação aos dados laboratoriais, foram anotados os informes que justificaram a realização da biópsia:

- **Perfil bioquímico:** alanina aminotransferase (ALT, U/L); aspartato aminotransferase (AST, U/L); gama glutamiltransferase (GGT, U/L); fosfatase alcalina (FA, U/L); bilirrubina total (BT, mg/dL), bilirrubina direta (BD, mg/dL); bilirrubina indireta (BI, mg/dL); proteínas totais (PT, g/dL), albumina (ALB, g/dL); creatinina (Cr, mg/dL); alfa-fetoproteína (AFP, ng/mL); Ureia (Ur, mg/dL); globulina (GLOB, g/dL); cálcio iônico (CAI, mmol/L); Cálcio total (CA, mg/dL); magnésio ( $Mg^+$ , mmol/L), potássio ( $K^+$ , mmol/L); sódio ( $Na^+$ , mmol/L); colesterol total (CT, mg/dL); lipoproteína de alta densidade (HDL-c, mg/dL); lipoproteína de baixa densidade (LDL-c, mg/dL); lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL, mg/dL) e triglicerídeos (TG, mg/dL); dosagem de glicemia de jejum (Glic, mg/dL); proteína C reativa (PCR, mg/dL).

- **Perfil sorológico:** Anti-HIV I E II (HIV, S/CO); toxoplasmose IgM (TOXO IgM, UI/mL); toxoplasmose IgG (TOXO IgG, UI/mL); citomegalovírus IgM (CMV IgM, UI/mL); citomegalovírus IgG (CMV IgG, UI/mL); chagas (Chagas não reagente/ reagente e titulação); *Venereal Disease Research Laboratory* - sífiles (VDRL, não reagente/ titulação); tuberculina purificada (PPD2, mm); Anti-HAV IgM (S/CO); Anti-HAV IgG (S/CO); Anti-HVC (S/CO); HbsAg (S/CO); Anti-HbsAg (UI/mL); Anti-HBc IgM (S/CO) e Anti-HBc IgG (S/CO).

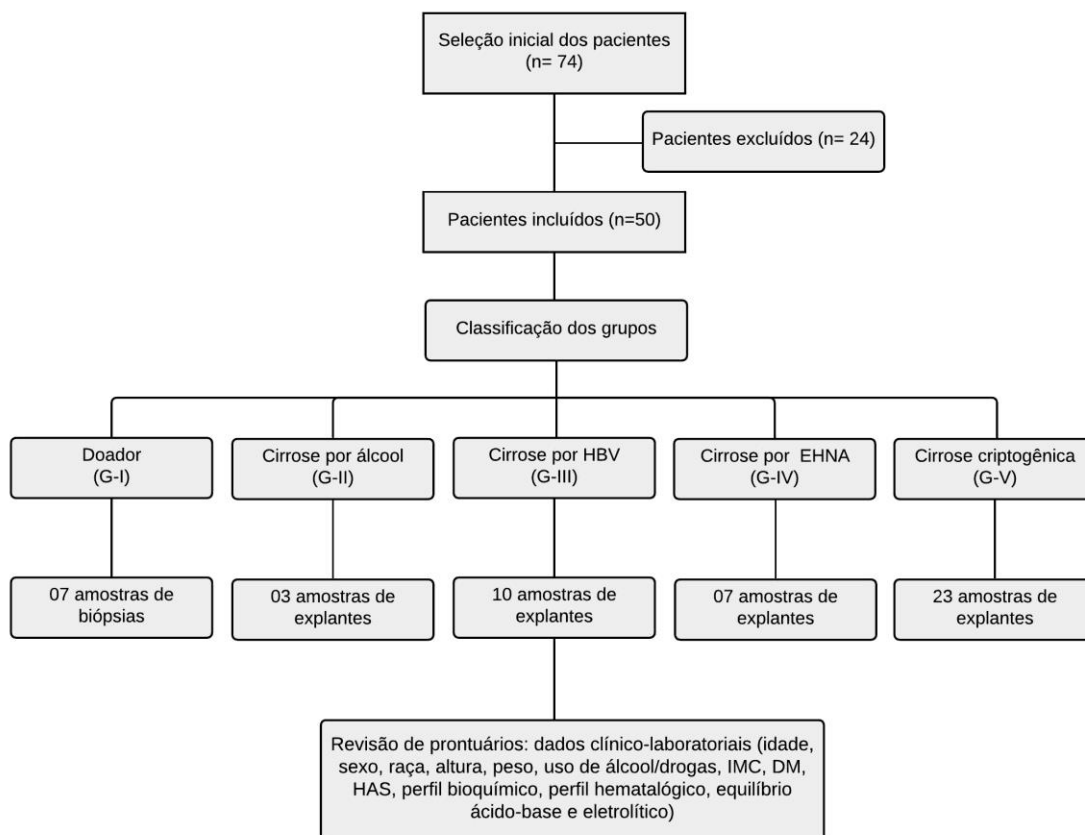
- **Perfil hematológico:** tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA, %); tempo e atividade de protrombina (TAP, %); hematócrito (HT, %); hemoglobina (HB, g/dL); contagem de plaquetas (PLC, Milh/mm<sup>3</sup>); fibrinogênio (FIB, mg/dL); índices hematimétricos (VCM - fl, HCM- pg e CHCM – g/dL, RDW - %); leucograma e mielograma (LEU, mm<sup>3</sup>; MIE, %/uL).

- **Equilíbrio ácido-base e eletrolítico** - Gasometria arterial: pH; pressão parcial de gás carbônico ( $pCO_2$ , mm.Hg); pressão parcial de oxigênio ( $pO_2$ , mm.Hg); saturação de oxigênio (SAO<sub>2</sub>, %); bicarbonato ( $HCO_3^-$ , mmol/L); excesso de bases (BE; mmol/L); saturação de bicarbonato ( $HCO_3^-$ -st, mmol/L); lactato (LAC, mmol/L), sódio (Na, mmol/L); potássio (K, mmol/L) e Cloro ( $Cl^-$ , mmol/L).

Os valores de referência utilizados estão relatados no Apêndice A. A Obesidade foi baseado no cálculo do IMC (calculado pela fórmula: peso em quilos /altura em metros<sup>2</sup>).

Sobrepeso, com IMC entre 25 e 29.9 Kg/m<sup>2</sup> e obeso com IMC  $\geq$  30 Kg/m<sup>2</sup> (MIALICH *et al.*; 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION 1995; QUETELET, 1842).

**Figura 4** - Organograma dos grupos de estudo e obtenção dos dados clínico-laboratoriais, 2019.



Fonte: elaborada pelo autor.

### 3.6 Preparação do material para a pesquisa

#### 3.6.1 Seleção do material das biópsias

As determinações dos grupos basearam-se nas análises das variáveis anatomopatológicas obtidas com base nos achados histopatológicos, para cada grupo. Primeiramente, foram separados dos arquivos do DPML as lâminas originais coradas com hematoxilina e eosina- HE (TIMM, 2005; JUNQUEIRA, 1995). Todas as lâminas arquivadas dos casos selecionados, foram revistas pelo patologista do DPML. Os casos que se mantiverem no diagnóstico inicial, foram selecionados e distribuídos de acordo com os grupos. Logo após a revisão das lâminas de HE, foi realizada a seleção dos respectivos blocos



das áreas de interesse, selecionando as áreas mais representativas para a pesquisa. Para cada caso separou-se uma amostra emblocada em parafina, provenientes de materiais de biópsias por punção aspirativa em cunha para o grupo G-I e duas amostras emblocadas em parafina de hepatectomia total (explantes) de cada caso, selecionados para os grupos cirróticos (G-II, G-III, G-IV e G-V).

### **3.6.2 Procedimentos analíticos**

#### **3.6.2.1 Microarray de tecidos – TMA**

Logo após a revisão das lâminas de HE foi realizado uma demarcação no local das áreas de interesse nas respectivas lâminas, para posterior confecção dos *tissue microarray* (TMA). Para a demarcação foi selecionado nos tecidos de tumores hepáticos um local contendo lesões histopatológicas específicas com áreas focais cirróticas, livres de neoplasias hepáticas (carcinoma hepatocelular - CHC) nas lâminas dos grupos cirróticos (G-II, G-III, G-IV e G-V).

A confecção dos blocos de TMAs (FIGURA 5) foram realizados no Laboratório de histopatologia do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvidos de Medicamentos (NPDM – UFC), de acordo com o método descrito por Kononen *et al.*, (1998). Previamente, à confecção dos blocos de TMAs, foi elaborada uma matriz de orientação (protocolo de montagem), contendo uma numeração determinada para cada caso. Na matriz os grupos foram distribuídos em 5 blocos diferentes separados de acordo com os grupos de estudo da pesquisa.

Como relatado anteriormente, para cada caso foram selecionados dois blocos originais das amostras teciduais de fígado para a confecção em duplicata dos TMAs, evitando a limitação dos números de cilindros nos casos com pouca representação tecidual. Na extração dos cilindros teciduais dos blocos de parafina originais (blocos doadores) previamente demarcados, foi utilizado uma agulha com uma área circunferencial representativa de 2 mm de diâmetro ( $3,14 \text{ mm}^2$ ). Os blocos de parafina doadores foram puncionados (punch) em cada área demarcada com um *microarray* de tecido (Quick-Ray UNITMA®), sendo transferidos para um bloco receptor contendo 36 a 70 poços circulares do mesmo diâmetro (2mm) de acordo com o mapa pré-estabelecido. No *microarray* não foi adicionado amostra em um dos poços circulares (linha 1, posição 3) para orientar o início da leitura e direcionamento das lâminas, referido como cilindro iniciador de leitura.

Após, os blocos receptores de TMAs foram colocados na estufa para derretimento e fusão das parafinas. Posteriormente, foram realizados cortes histológicos de 3 µm de espessura em cada bloco receptor utilizando o micrótomo (Lupetec® MRP-09) e depositados em lâminas de vidro sinalizadas por “pescagem” e numeradas de acordo com os blocos. Posteriormente, foi separado um corte de cada bloco receptor para a preparação das lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE) e para as reações de imuno-histoquímica.

**Figura 5** – Demonstração da construção dos *microarray de tecidos*, 2019.



Fonte: elaborada pelo autor.

### 3.6.2.2 Procedimentos para a coloração hematoxilina-eosina dos TMAs

Para as análises histopatológicas os cortes de tecidos dos blocos receptores de TMA foram desparafinados em estufa por 60 minutos a 65°C, diafanizados em dois banhos de xilol absoluto (5 minutos cada) e reidratados em concentrações graduais de álcool absoluto (90, 85 e 70%), durante 3 minutos cada. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente durante 3 minutos e depois coradas com hematoxilina de *Harris* por 5 minutos. Posteriormente, as lâminas foram novamente lavadas em água corrente durante 3 minutos (para o desenvolvimento da cor azul). Em seguida, as secções foram contracoradas com eosina alcoólica 5% durante 5 minutos e rapidamente desidratadas em soluções de álcool absoluto (70, 85 e 100%) por 3 minutos cada. Após a diafanização em xilol absoluto por 5 minutos, as lâminas foram montadas em meio Entellan® (Merck, Alemanha) com lamínula de vidro.

### 3.6.2.3 Procedimento Imuno-histoquímico

Uma lâmina de cada um dos blocos receptores de TMA foi submetida a reação imuno-histoquímica, previamente padronizada para a pesquisa, com cada um dos anticorpos listados na Tabela 1. Após aquecimento a 60°C em estufa, a primeira etapa da técnica consistiu na desparafinização do corte, procedidos de três banhos sucessivos em solução de xilol em temperatura ambiente. Em seguida, foi realizado a reidratação das amostras por meio de banhos de 3 minutos em sequência decrescente de concentração de etanóis (100, 85 e 70%). Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente durante 3 minutos.

A recuperação antigênica foi realizada em calor úmido no forno de micro-ondas por imersão de amostras em tampão de citrato com pH 6,0 (*Sigma-Aldrich*, São Paulo, Brasil) durante 45 min a 95°C em banho Maria (FIGURA 6). Após resfriamento à temperatura ambiente, foram realizadas duas lavagens com solução tampão fosfato (PBS). Para inativar a peroxidase endógena, os espécimes foram incubados durante 30 min em solução de peróxido de hidrogênio a 3%, diluído em PBS (0,1M). Logo após, foram realizadas duas lavagens com solução tampão fosfato (PBS).

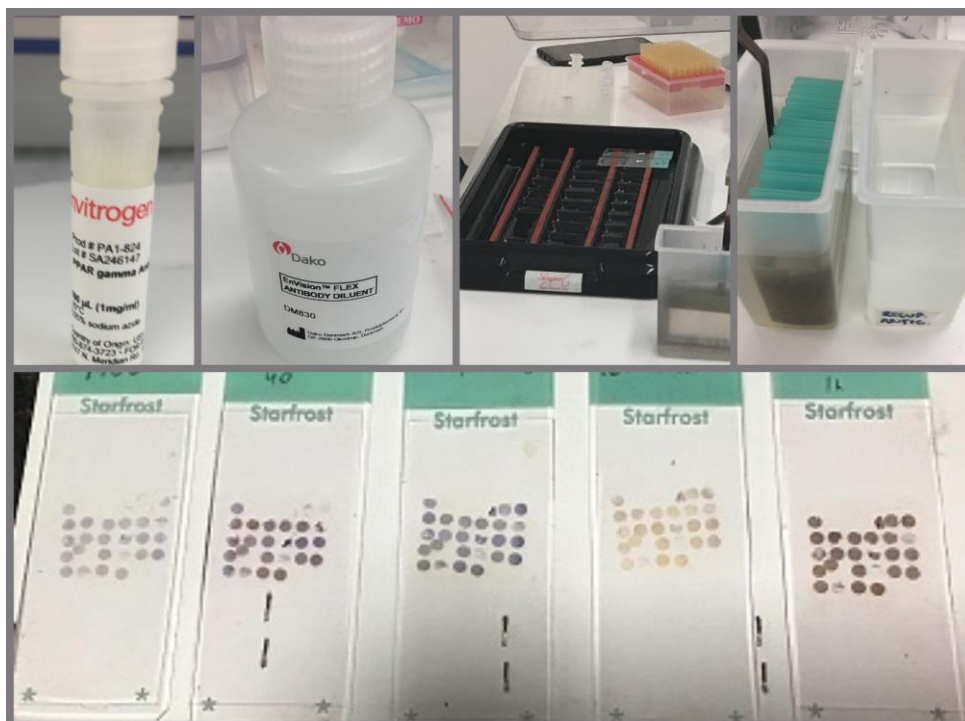
Imediatamente após procedeu-se a incubação dos anticorpos primários (250ul) em câmara úmida com proteção contra luz (FIGURA 6). As lâminas foram imersas em PBS, por tempo necessário, em temperatura de 20°C. Os anticorpos primários (Ab) utilizados foram: Anti-HBV core (1:300, policlonal, INVITROGEN®, Thermofisher, PA516368), IL-6 (1:300, monoclonal, Abcam® ab6672), ANTI-PPAR DELTA (1:1500, policlonal, INVITROGEN®, Thermofisher, PA516368), PPAR GAMMA-2 (1:400, policlonal; INVITROGEN®, Thermofisher, PA1824) e ANTI-NF-KB p65 (1:100, policlonal, NOVEX, Thermofisher®, 510500).

Após o tempo de incubação de cada anticorpo primário foram realizadas duas lavagens em PBS durante 5 minutos. Em seguida, as amostras foram incubadas com o anticorpo secundário anti-IgG monoclonal/coelho (goat anti-rabbit Ig) pronto para uso (Envision HRP, Dako®, k4061) por 30 minutos. Em seguida, foram realizadas duas lavagens com solução tampão fosfato (PBS) por 5 minutos.

A revelação foi realizada com uma gota (20uL) do cromógeno de diaminobenzidina (DAB) em 1mL de tampão substrato (Liquid DAB Plus, Dako® Corporation, Carpinteria, CA, EUA, K346811-2) por 30 minutos. Após o tempo estabelecido para a revelação a reação foi paralisada com água destilada e contracoradas com hematoxilina de Harris por 10 segundos, seguido de imersão em água corrente por 3 minutos. Após, procedeu-se então à

desidratação, feita com banhos sucessivos de 5 minutos em cadeia crescente de etanóis (de 70, 85, 90%), e à diafanização com xilol durante 5 minutos. Para a montagem das lâminas utilizou-se o meio de montagem permanente (Enthelam®, Merck – Alemanha, 107961).

**Figura 6** – Demonstração do procedimento Imuno-histoquímico, 2019.



Fonte: elaborada pelo autor.

**Tabela 1** - Padronização das reações de imuno-histoquímica para os respectivos anticorpos.

| Anticorpo 1º | Tempo de incubação | Títuloção | Fornecedor | Clone              | Imunolocalização |
|--------------|--------------------|-----------|------------|--------------------|------------------|
| HBV-core     | 60 minutos         | 1/300     | Invitrogen | Policlonal/ coelho | Nuclear          |
| IL-6         | Over-night         | 1/300     | Abcma      | Policlonal/ coelho | Intercelular     |
| NF-κB        | 40 minutos         | 1/100     | Invitrogen | Policlonal/ coelho | Nuclear          |
| Anti-PPARγ   | 60 minutos         | 1/400     | Novex      | Policlonal/ coelho | Nuclear          |
| Anti-PPARβ/δ | 40 minutos         | 1/1500    | Invitrogen | Policlonal/ coelho | Nuclear          |

Fonte: elaborada pelo autor.

### 3.7 Análise do material

#### 3.7.1 Análise histopatológica

As lâminas de TMAs foram devidamente identificadas e analisadas aleatoriamente em microscópio óptico (OLYMPUS®, modelo U-MDOB3) no DPML. As reações foram validadas sempre pelo mesmo patologista, com experiência e sem conhecimento das informações clínico-laboratoriais dos pacientes.

Para o estudo as variáveis histológicas foram analisadas e semi-quantificadas de acordo com as alterações estruturais, alterações necro-inflamatórias, esteatose macrovacuolar, esteatose microvacuolar, balonização hepatocelular, fibrose, corpúsculos hialinos de Mallory-Denk, pseudoinclusão nuclear de glicogênio entre outros.

Para a avaliação da hepatite crônica, as variáveis histológicas foram analisadas e semi-quantificadas, segundo a classificação de Ishak (ISHAK, 1995). Foram considerados as principais características das variáveis, como: as alterações estruturais (fibrose), graduadas de 0 a 4, podendo variar entre normal, fibrose (septos porta-porta e/ou porta-centro e nódulos) a cirrose; alterações necro-inflamatórias, nos compartimentos portal/septal e lobular, e semi-quantificadas quanto à atividade, graduados de 0 a 4. A necrose confluenta foi graduada de 0 a 6 e a necrose lítica de 0 a 4 conforme descrita nas Tabelas 2 e 3. Essa semi-quantificação independe da presença de folículos linfóides.

Na avaliação histológica da doença hepática gordurosa não alcoólica foram considerados: A presença de esteatose associada à balonização hepatocitária e/ou infiltrado inflamatório, avaliados de acordo com a classificação de Brunt *et al.* (1999) e Brunt, (2004), graduados conforme a Tabela 4. A avaliação histopatológica de EHNA também foi baseada na classificação padronizada pelo “*Pathology Committee of the NASH Clinical Research Network Scoring System (NAS) - Nash activity score*” que designa avaliar as características histológicas através da utilização do escore de atividade para DHGNA em estudos clínicos (KLEINER *et al.*, 2005). Para a avaliação histológica, o escore é calculado utilizando a soma dos parâmetros: esteatose, em graus de 0 a 3; inflamação lobular, em graus de 0 a 3 e balonização em graus de 0 a 2. Os valores  $NAS \geq 5$  correlacionam-se com o diagnóstico de EHNA, enquanto aqueles com valores menores que 3 excluem o diagnóstico de EHNA (TABELA 5) e os valores entre 3 e 4 podem ser alocados nas categorias de ausência, presença ou provável EHNA. Para o estadiamento das alterações estruturais, atribui-se o grau 4 para casos com septos de fibrose, determinando nódulos ou na presença de cirrose já estabelecida.

Os graus são atribuídos integrando-se densidade celular e tecidual das variáveis, considerando-se que a distribuição na amostra é frequentemente heterogênea. Assim, a gradação resulta tanto da frequência com que a variável se apresenta, como também da dimensão de sua expressão (APÊNDICE B).

**Tabela 2** – Alteração arquitetural de acordo com a classificação de Ishak.

| <b>Alteração arquitetural (Fibrose)*</b>  | <b>Escala</b> |
|---|---------------|
| Sem fibrose (arquitetura normal)  | 0             |
| Expansão fibrosa de algumas áreas portal, com alargamento dessas áreas  | 1             |
| Expansão fibrosa da maioria das áreas portal, com desenvolvimento de septos porta-porta (P-P)   | 2             |
| Expansão fibrosa da maioria das áreas do portal, com presença de septos porta-porta e porta-centro (P-P e P-C), com preservação parcial da arquitetura lobular e esboços de nódulos | 3             |
| Cirrose, provável ou definitiva   | 4             |

Fonte: Ishak *et al.* (1995 com adaptações).

**Tabela 3** – Avaliação da atividade inflamatória e de necrose de acordo com a classificação de Ishak.

| <b>Alterações necro-inflamatórias</b>                                  | <b>Escala</b> |
|--|---------------|
| <b>Infiltrado inflamatório portal/septal (necrose fragmentada)</b>     |               |
| Ausente ou raros   | 0             |
| Leve (focal, pouca área portal)  | 1             |
| Leve / moderada (focal, a maioria das áreas portal)                    | 2             |
| Moderado (contínuo <50% dos setores ou septos)                         | 3             |
| Grave (contínuo > 50% de setores ou septos)                            | 4             |
| <b>Necrose confluyente</b>   |               |
| Ausente  | 0             |
| Necrose confluyente focal  | 1             |
| Necrose da Zona 3 em algumas áreas                                     | 2             |
| Necrose da Zona 3 na maioria das áreas                                 | 3             |
| Necrose da Zona 3 + ponte portal-central ocasional (P-C)               | 4             |
| Necrose da zona 3 + ponte portal-central múltipla (P-C)                | 5             |
| Necrose confluyente pan-acinar ou multiacinar                          | 6             |
| <b>Necrose lítica focal (irregular), apoptose e inflamação focal *</b> |               |
| Ausente  | 0             |
| Um foco ou menos - objetivo 10x  | 1             |
| Dois a quatro focos - objetiva 10x                                     | 2             |

| Alterações necro-inflamatórias                                     | Escala |
|--|--------|
| <b>Infiltrado inflamatório portal/septal (necrose fragmentada)</b> |        |
| Cinco a dez focos – objetivos 10x                                  | 3      |
| Mais de dez focos – objetivos 10x                                  | 4      |
| <b>Inflamação portal</b>   |        |
| Nenhum   | 0      |
| Leve, algumas ou todas as áreas do portal                          | 1      |
| Moderada, algumas ou todas as áreas do portal                      | 2      |
| Moderada / marcada, todas as áreas do portal                       | 3      |
| Marcado, todas as áreas do portal                                  | 4      |

Fonte: Ishask *et al.* (1995 com adaptações).

**Tabela 4** – Avaliação da presença de esteatose associada a balonização hepatocitária e/ou infiltrado inflamatório de acordo com a classificação de Brunt.

| Variáveis                        | Descrição   | Escala |
|----------------------------------|---|--------|
| <b>Esteatose</b>                 | Ausente   | 0      |
|                                  | Até 33% dos ácinos, principalmente macrovesiculares   | 1      |
|                                  | Entre 34-66% dos ácinos, comumente esteatose mista  | 2      |
|                                  | Mais de 66% dos ácinos (panacinar), comumente esteatose mista   | 3      |
| <b>Balonização hepatocelular</b> | Ausente   | 0      |
|                                  | Ocasional na zona III   | 1      |
|                                  | Óbvio na zona III   | 2      |
|                                  | Marcado, predominantemente na zona III  | 3      |
| <b>Inflamação lobular</b>        | Ausente   | 0      |
|                                  | Neutrófilos dispersos, células mononucleares ocasionais, 1 ou 2 focos – objetiva 20x                    | 1      |
|                                  | Neutrófilos associados a hepatócitos em balão, leve inflamação crônica, 3 ou 4 focos - objetiva 20x     | 2      |
|                                  | Inflamação aguda e crônica, os neutrófilos podem se concentrar zona III, mais de 4 focos – 20x objetiva | 3      |
| <b>Inflamação portal</b>         | Ausente   | 0      |
|                                  | Leve, algumas áreas do portal   | 1      |
|                                  | Leve a moderada, a maioria das áreas portal   | 2      |
|                                  | Moderada a severa, a maioria das áreas portal   | 3      |
| <b>Estágio</b>                   | Sem fibrose   | 0      |
|                                  | Fibrose perivenular, perisinusoidal (pericelular) da zona III   | 1      |
|                                  | Alterações do estágio 1 + fibrose periportal  | 2      |
|                                  | Fibrose em ponte  | 3      |
|                                  | Cirrose   | 4      |

Fonte: Brunt *et al.* 1999 e Brunt, 2004 (com adptações).

**Tabela 5:** Definição e escores de acordo com NAS “*Clinical Research Network Scoring System*”.

| Variáveis                             | Descrição                                | Escala |
|---------------------------------------|--|--------|
| <b>Esteatose</b>                      | <5%                                      | 0      |
|                                       | 5-30%                                    | 1      |
|                                       | 33-66%                                   | 2      |
|                                       | >66%                                     | 3      |
| <b>Esteatose microvesicular</b>       | Ausente                                  | 0      |
|                                       | Presente                                 | 1      |
| <b>Estágio de fibrose</b>             | Ausente                                  | 0      |
|                                       | Perisinusoidal ou periportal             | 1      |
|                                       | Suave, zona 3, perisinusoidal            | 2      |
|                                       | Moderado, zona 3, perisinusoidal         | 3      |
|                                       | Portal/periportal                        | 4      |
|                                       | Perisinusoidal e portal/periportal       | 5      |
|                                       | Ponte de fibrose                         | 6      |
|                                       | Cirrose                                  | 7      |
| <b>Inflamação lobular</b>             | Ausente                                  | 0      |
|                                       | <2 focos por campo de 200x               | 1      |
|                                       | 2-4 focos por campo de 200x              | 2      |
|                                       | >4 focos por campo de 200x               | 3      |
| <b>Microgranuloma</b>                 | Ausente                                  | 0      |
|                                       | Presente                                 | 1      |
| <b>Lipogranuloma</b>                  | Ausente                                  | 0      |
|                                       | Presente                                 | 1      |
| <b>Inflamação portal</b>              | Ausente                                  | 0      |
|                                       | Poucas células com balonização           | 1      |
|                                       | Muitas células / balonização proeminente | 2      |
| <b>Corpos acidófilos</b>              | Ausente a mínima                         | 0      |
|                                       | Frequente                                | 1      |
| <b>Macrófagos pigmentados</b>         | Ausente a mínima                         | 0      |
|                                       | Presente                                 | 1      |
| <b>Megamitocôndria</b>                | Ausente a mínima                         | 0      |
|                                       | Frequente                                | 1      |
| <b>Corpúsculo hialinos de Mallory</b> | Ausente a mínima                         | 0      |
|                                       | Frequente                                | 1      |
| <b>Glicogenação</b>                   | Ausente a mínima                         | 0      |
|                                       | Frequente                                | 1      |
| <b>Classificação diagnóstica</b>      | Não esteato-hepatite                     | 0      |
|                                       | Possível / limítrofe)                    | 1      |
|                                       | Esteato-hepatite definida                | 2      |

Escore da atividade da esteato hepatite não alcoólica proposto pelo “*Pathology Committee of the NASH Clinical Research Network*”. Os valores de NAS  $\geq 5$  correlacionam-se com diagnóstico da EHNA e o escores menores que 3 correlacionam com a ausência da EHNA, e os valores entre 3 e 4 podem ser alocados nas categorias de ausência, presença ou provável EHNA.

Fonte: Kleiner *et al.* (2005 com adaptações).



### 3.7.2 Análise Imuno-histoquímica

Nesta etapa realizou-se a comparação de imunoexpressão dos anticorpos nos tecidos marcados em todos os grupos. As lâminas foram analisadas de forma qualitativa e semi-quantitativa. As reações positivas foram definidas quando apresentavam-se coradas de cor marrom no citoplasma e núcleo. As células foram contadas nas áreas (campos) em pequeno aumento (40X) e onde exibiam maior concentração de células positivas foi utilizado o auxílio da ocular integradora em grande aumento (100X). A leitura das reações para os anticorpos HBV-core, NF- $\kappa$ B, PPAR $\gamma$  e PPAR $\beta/\delta$  foram considerados positivos quando apresentavam de 5 a 10% das células coradas em marrom.

Para avaliar a frequência da imunoexpressão, as porcentagens de células positivas foram analisadas em cada “spot” por meio da contagem de células (1000 núcleos ou o máximo de células possível em cada “spot”) para cada anticorpo e o resultado foi expresso em porcentagem de células marcadas. Para a frequência da imunoexpressão a marcação foi graduada em uma escala de 0-4, sendo: 0, inferior a 5% de células positivas; 1, 5-25% das células positivas; 2, 26-50% das células positivas; 3, 51-75% das células positivas e 4, 76-100% de células positivas (ZHANG *et al.*, 2015; ZANG *et al.*, 2013).

Os anticorpos foram pontuados, respectivamente, com base na intensidade de coloração, considerando-se diferentes localizações (citoplasma e núcleo) de acordo com escores que variavam de 0 a 3, sendo: 1 (fraca); 2 (moderada) e 3 (forte). As avaliações de marcações utilizadas podem ser visualizadas no Apêndice C.

Para as análises da IL-6, realizou-se a contagem dos macrófagos positivos (células de kupffer) em cada amostra. As contagens das células positivas foram estabelecidas pela soma obtida do infiltrado inflamatório em 10 campos consecutivos em um aumento de 400x (BRACKS *et al.*, 2014) e calculado a média do somatório das células (Células marcadas = número de células contadas/10). Na região periportal/sinusoidal contabilizou-se o número de células positivas em 10 campos consecutivos.

### 3.7.3 Análises dos dados clínicos, anatomopatológicos e bioquímicos

Os dados clínicos e anatomopatológicos importantes para a análise de dados da pesquisa anotados após a seleção dos pacientes (fatores de inclusão e exclusão), foram obtidos através da revisão de laudos e resumos de prontuários. Além das variáveis como sexo, idade, raça, peso, altura, DM, HAS, óbito, história de etilismo, esteato-hepatite alcoólica, infecção

por HBV, EHNA, cirrose criptogênica também foram coletados os valores de Child-Pugh e MELD. Para a pesquisa as análises bioquímicas e exames complementares foram coletados dos prontuários e pelo programa MASTER (sistema utilizado para arquivar os dados dos pacientes). Foram anotados os valores dos testes no início do diagnóstico e no pré-transplante, quando disponíveis.

O escore de Child-Pugh é usado para avaliar o prognóstico da doença hepática crônica, principalmente na cirrose. Neste estudo foram coletados dados presentes nos prontuários sobre a classificação do escore de Child-Pugh (CHILD *et al.* 1964, PUGH *et al.*, 1973). Para esse escore são analisados cinco variáveis como: bilirrubina sérica, albumina sérica, tempo de protrombina, ascite e encefalopatia hepática. Para cada variável é atribuído um ponto e o escore total refere-se à soma dos pontos variando de cinco a 15 pontos. Os escores são organizados em letras, no qual a letra A, engloba os escores de cinco a seis pontos (menor gravidade), B de sete a nove pontos (moderada gravidade) e C de 10 a 15 pontos (maior gravidade).

A classificação de MELD (Modelo para Doença Hepática Terminal) é um sistema de pontuação que quantifica a urgência de transplante hepático em pacientes maiores de 12 anos e reconhece o critério de gravidade do estado clínico do paciente. Essa fórmula permite o cálculo dos valores dos resultados laboratoriais da creatinina, bilirrubina total e o tempo de protrombina (*International Normalized Ratio- INR*), assim, quanto maior for o valor MELD, menor é a sobrevida do paciente (KAMATH *et al.*, 2011). Para este estudo os escores de MELD foram coletados dos prontuários dos pacientes e organizados em números, no qual o número 1, engloba os escores <10 (4% mortalidade), número 2 de 10 a 19 (27% de mortalidade), o número 3 de 20 a 29 (76% mortalidade), número 4 de 30 a 39 (83% mortalidade) e o número 5 de 40 ou mais (100% mortalidade).

### **3.8 Aspectos legais e éticos da pesquisa**

Em todo o momento da pesquisa, houve preocupação em seguir os princípios legais e éticos que orientam pesquisas com seres humanos de acordo com a resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde (BRASIL, 2012). O projeto foi submetido e aprovado Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFC por meio da Plataforma Brasil, sob o nº 1.666.944 (ANEXO A).

### 3.9 Análise estatística

Os dados contínuos e semi-contínuos foram inicialmente comparados com a curva de Gauss através do teste de distância K-S (Kolmogorov-Seminov) e determinados como paramétricos ou não paramétricos. Em caso de variáveis quantitativas foram realizadas análises univariadas dos dados por meio do programa SPSS 19.0 (SPSS Inc. Chicago, IL). Os dados quantitativos foram expressos em forma de média e desvio-padrão e a diferenças entre as médias de múltiplas variáveis (médias entre três ou mais grupos independentes) foram analisadas pelo teste ANOVA e pós-teste de Bonferroni. Os dados categóricos foram expressos em forma de frequência absoluta e percentual e analisados pelos testes exatos de Fisher ou qui-quadrado de Pearson. Foi estabelecido o intervalo de confiança de 95%. Todos os valores com  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Análise das principais características dos pacientes do estudo

O número amostral deste estudo (n) foi igual a 50 pacientes, sendo 7 pacientes para o grupo doador (G-I), 3 pacientes para o grupo de cirrose por álcool (G-II); 10 pacientes para o grupo de cirrose por HBV (G-III); 7 pacientes para o grupo de cirrose por EHNA (G-IV) e 23 pacientes para o grupo de cirrose criptogênica (G-V).

Quanto à análise sócio-demográfica dos 50 pacientes a variável da idade apresentou uma média de 51,44 ( $\pm 15,85$ ) anos. Não foi verificada diferença estatística entre as médias dos grupos G-I (43,29 $\pm$ 22,63), G-II (58,33 $\pm$ 14,36), G-III (54,80 $\pm$ 12,08), G-IV (57,29 $\pm$ 14,31) e G-V (49,78 $\pm$ 17,67). Em relação ao peso e altura dos pacientes, não foi verificada diferença estatística entre os grupos (TABELA 6).

Frente à variável de gênero, foram incluídos neste estudo 23 indivíduos (46%) do sexo masculino e 27 (54%) do sexo feminino, apresentando diferença significativa entre os grupos ( $p=0,023$ ). Destes, 5 (71%) casos do grupo G-I, 4 (57%) casos do grupo G-IV e 16 (70%) casos do grupo G-V eram do sexo feminino. Quanto ao sexo masculino, foi observado em 3 indivíduos (100%) do grupo G-II e 8 indivíduos (80%) do grupo G-III (TABELA 6).

Quanto à variável da etnia, 41 (82%) pacientes eram pardos e 9 (18%) não pardos, não foi observada diferença significativa entre os grupos. Na variável do grau de escolaridade, 21 (42%) indivíduos eram alfabetizados ou concluíram o ensino fundamental e 22 (44%) indivíduos concluíram o ensino médio (TABELA 6). Em relação ao número de óbitos, foi observado um total de 17 (34%) óbitos. Do total, 2 (67%) óbitos eram do grupo G-I; 4 (40%) óbitos eram do grupo G-II, 3 (43%) óbitos eram do grupo G-IV e 8 (35%) óbitos eram do grupo G-V. Não foi verificada diferença estatística na variável da etnia, escolaridade e do número de óbito entre os grupos.

Quanto aos dados relacionados às comorbidades (TABELA 6), não foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos para DM. Porém, dos 50 pacientes, 12 (24%) apresentavam diagnóstico para DM isolados ou associados a HAS. Ao comparar os dados do diagnóstico de HAS ( $p=0,043$ ), a maioria dos pacientes dos grupos G-I, G-II, G-III e G-V não tinham antecedentes de HAS (82%) e 4 (57%) pacientes do grupo G-IV tinham antecedentes de HAS.

**Tabela 6** - Distribuição das variáveis demográficas e comorbidades do grupo doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.

| Dados                 | Grupos        |         |                |         |              |        |              |        |                     |        | p-Valor      |
|-----------------------|---------------|---------|----------------|---------|--------------|--------|--------------|--------|---------------------|--------|--------------|
|                       | Doador<br>G-I |         | Álcool<br>G-II |         | HBV<br>G-III |        | EHNA<br>G-IV |        | Criptogênica<br>G-V |        |              |
|                       | M±DP          |         | M±DP           |         | M±DP         |        | M±DP         |        | M±DP                |        |              |
| Idade (anos)          | 43,29±22,63   |         | 58,33±14,36    |         | 54,80±12,08  |        | 57,29±14,31  |        | 49,78±17,67         |        | 0,476        |
| Peso (Kg)             | 64,86±10,17   |         | 80,13±12,34    |         | 71,90±10,03  |        | 68,43±7,52   |        | 64,15±15,45         |        | 0,221        |
| Altura (cm)           | 164,29±6,45   |         | 170,00±5,00    |         | 165,30±6,06  |        | 164,00±8,27  |        | 160,43±8,10         |        | 0,172        |
|                       | N° (%)        |         | N° (%)         |         | N° (%)       |        | N° (%)       |        | N° (%)              |        |              |
| <b>Sexo</b>           |               |         |                |         |              |        |              |        |                     |        |              |
| Masculino             | 2             | 29,00%  | 3*             | 100,00% | 8*           | 80,00% | 3            | 43,00% | 7                   | 30,00% | <b>0,023</b> |
| Feminino              | 5*            | 71,00%  | 0              | 0,00%   | 2            | 20,00% | 4*           | 57,00% | 16*                 | 70,00% |              |
| <b>Cor</b>            |               |         |                |         |              |        |              |        |                     |        |              |
| Pardo                 | 6             | 86,00%  | 3              | 100,00% | 6            | 60,00% | 6            | 86,00% | 20                  | 87,00% | 0,348        |
| Não-pardo             | 1             | 14,00%  | 0              | 0,00%   | 4            | 40,00% | 1            | 14,00% | 3                   | 13,00% |              |
| <b>Grau instrução</b> |               |         |                |         |              |        |              |        |                     |        |              |
| Alfabetizado/1º Grau  | 0             | 0,00%   | 0              | 0,00%   | 8            | 80,00% | 3            | 43,00% | 10                  | 43,00% | 0,068        |
| 2º Grau               | 0             | 0,00%   | 3              | 100,00% | 2            | 20,00% | 4            | 57,00% | 13                  | 57,00% |              |
| <b>Óbito</b>          |               |         |                |         |              |        |              |        |                     |        |              |
| Não                   | 7             | 100,00% | 1              | 33,00%  | 6            | 60,00% | 4            | 57,00% | 15                  | 65,00% | 0,245        |
| Sim                   | 0             | 0,00%   | 2              | 67,00%  | 4            | 40,00% | 3            | 43,00% | 8                   | 35,00% |              |
| <b>DMs</b>            |               |         |                |         |              |        |              |        |                     |        |              |
| Não                   | 7             | 100,00% | 2              | 67,00%  | 6            | 60,00% | 3            | 43,00% | 20                  | 87,00% | 0,052        |
| Sim                   | 0             | 0,00%   | 1              | 33,00%  | 4            | 40,00% | 4            | 57,00% | 3                   | 13,00% |              |
| <b>HAS</b>            |               |         |                |         |              |        |              |        |                     |        |              |
| Não                   | 7*            | 100,00% | 3*             | 100,00% | 8*           | 80,00% | 3            | 43,00% | 20*                 | 87,00% | <b>0,043</b> |
| Sim                   | 0             | 0,00%   | 0              | 0,00%   | 2            | 20,00% | 4*           | 57,00% | 3                   | 13,00% |              |

Dados apresentados como frequência absoluta e percentual, \*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

DM = diabetes mellitus; HAS = hipertensão arterial sistêmica.

Referente aos resultados sorológicos (TABELA 7), dos 50 pacientes, 37 pacientes (74%) apresentavam sorologia reativa para toxoplasmose de classe IgG, mas não apresentaram diferença significativa entre os grupos. A prova tuberculina (derivado proteico purificado/PPD), cerca de 7 (70%) dos casos do grupo G-III apresentaram reação positiva (fraco/forte) e 5 (22%) casos do grupo G-V apresentaram reação positiva (fraco/forte), porém, não apresentaram diferença significativa entre os grupos.

Quanto a sorologia para o citomegalovírus, cerca de 44 (50%) casos apresentaram reativos para citomegalovírus de classe IgG em relação ao número total da amostra, mas sem diferença significativa entre os grupos. Em relação a sorologia para hepatite A (HVA), 40

(80%) casos apresentaram reativo para a classe IgG, porém, sem diferença significativa entre os grupos.

Em relação à sorologia da hepatite B, nove (90%) casos do grupo de cirrose por HBV (G-III), apresentaram reativos para os anticorpos contra o antígeno de superfície (anti-HBs) e para anticorpos totais contra o “core” (núcleo) do vírus da Hepatite B (anti-Hbc), ( $p < 0,001$ ). Quanto às variáveis da sorologia para sífilis, VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*), anticorpo da hepatite C (anti-HCV), chagas e o anti-HIV 1 e 2 não foram reativos em nenhum indivíduo.

**Tabela 7** - Distribuição do grupo doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, segundo a sorologia diagnóstica, Fortaleza-Ce, 2019.

|                 | Grupos        |      |                |      |              |      |              |      |                     |     | p-Valor |  |
|-----------------|---------------|------|----------------|------|--------------|------|--------------|------|---------------------|-----|---------|--|
|                 | Doador<br>G-I |      | Álcool<br>G-II |      | HBV<br>G-III |      | EHNA<br>G-IV |      | Criptogênica<br>G-V |     |         |  |
| <b>TOXO IgG</b> |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |     |         |  |
| NR              | 2             | 29%  | 1              | 33%  | 2            | 20%  | 3            | 43%  | 5                   | 23% | 0,840   |  |
| Reagente        | 5             | 71%  | 2              | 67%  | 8            | 80%  | 4            | 57%  | 17                  | 77% |         |  |
| <b>TOX IgM</b>  |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |     |         |  |
| NR              | 7             | 100% | 3              | 100% | 10           | 100% | 7            | 100% | 22                  | 96% | 0,878   |  |
| Reagente        | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 1                   | 4%  |         |  |
| <b>PPD</b>      |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |     |         |  |
| NR              | 0             | 0%   | 2              | 67%  | 3            | 30%  | 6            | 86%  | 18                  | 78% | 0,061   |  |
| Reator fraco    | 0             | 0%   | 1              | 33%  | 2            | 20%  | 0            | 0%   | 3                   | 13% |         |  |
| Reator forte    | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 5            | 50%  | 1            | 14%  | 2                   | 9%  |         |  |
| <b>CMV IgG</b>  |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |     |         |  |
| NR              | 0             | 0%   | 1              | 33%  | 1            | 10%  | 0            | 0%   | 4                   | 17% | 0,423   |  |
| Reagente        | 7             | 100% | 2              | 67%  | 9            | 90%  | 7            | 100% | 19                  | 83% |         |  |
| <b>CMV IgM</b>  |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |     |         |  |
| NR              | 7             | 100% | 3              | 100% | 9            | 90%  | 7            | 100% | 22                  | 96% | 0,799   |  |
| Reagente        | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 1            | 10%  | 0            | 0%   | 1                   | 4%  |         |  |
| <b>HVA IgG</b>  |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |     |         |  |
| NR              | 1             | 14%  | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 1            | 14%  | 8                   | 35% | 0,154   |  |
| Reagente        | 6             | 86%  | 3              | 100% | 10           | 100% | 6            | 86%  | 15                  | 65% |         |  |

|                       | Grupos        |      |                |      |              |      |              |      |                     |      | p-Valor |  |
|-----------------------|---------------|------|----------------|------|--------------|------|--------------|------|---------------------|------|---------|--|
|                       | Doador<br>G-I |      | Álcool<br>G-II |      | HBV<br>G-III |      | EHNA<br>G-IV |      | Criptogênica<br>G-V |      |         |  |
| <b>HVA IgM</b>        |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| NR                    | 7             | 100% | 3              | 100% | 10           | 100% | 7            | 100% | 23                  | 100% | 1,000   |  |
| Reagente              | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |
| <b>HBsAg</b>          |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| Não reagente          | 7*            | 100% | 3*             | 100% | 1            | 10%  | 7*           | 100% | 23*                 | 100% | <0,001  |  |
| Reagente              | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 9*           | 90%  | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |
| <b>Anti-HBsAg</b>     |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| NR                    | 7             | 100% | 2              | 67%  | 9            | 90%  | 7            | 100% | 23                  | 100% | 0,056   |  |
| Reagente              | 0             | 0%   | 1              | 33%  | 1            | 10%  | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |
| <b>Anti-HBC</b>       |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| NR                    | 7*            | 100% | 1              | 33%  | 1            | 10%  | 7*           | 100% | 23*                 | 100% | <0,001  |  |
| Reagente              | 0             | 0%   | 2*             | 67%  | 9*           | 90%  | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |
| <b>VDRL</b>           |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| NR                    | 7             | 100% | 3              | 100% | 10           | 100% | 7            | 100% | 23                  | 100% | 1,000   |  |
| Reagente              | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |
| <b>Anti-HCV</b>       |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| Não reagente          | 7             | 100% | 3              | 100% | 10           | 100% | 7            | 100% | 23                  | 100% | 1,000   |  |
| Reagente              | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |
| <b>Chagas</b>         |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| NR                    | 7             | 100% | 3              | 100% | 10           | 100% | 7            | 100% | 23                  | 100% | 1,000   |  |
| Reagente              | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |
| <b>Anti-HIV 1 e 2</b> |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| NR                    | 7             | 100% | 3              | 100% | 10           | 100% | 7            | 100% | 23                  | 100% | 1,000   |  |
| Reagente              | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |

Dados apresentados como frequência absoluta e percentual, \*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

TOXO TgM= toxoplasmose de classe IgM; TOXO IgG= toxoplasmose de classe IgG; PPD = derivado proteico purificado para tuberculose; CMV IgM = citomegalovírus de classe IgM; CMV IgG = citomegalovírus de classe IgG; HVA IgM = anticorpo contra o vírus da hepatite A de classe IgM; HVA IgG = anticorpo contra o vírus da hepatite A de classe IgG; HBsAg = antígeno de superfície da Hepatite B; anti-Hbs = antígeno de superfície da Hepatite B; anti-Hbc = anticorpos totais contra o "core" (núcleo) do vírus da Hepatite B; VDRL= *Venereal Disease Research Laboratory*; anti-HCV = anticorpo anti hepatite C, anti-HIV 1 e 2 = anticorpo contra o vírus da imunodeficiência humana; NR = não reativo.

Quanto a relação do critério de Child-Pugh observou-se que 3 (100%) casos do grupo cirrose por álcool (G-II) e 8 (80%) casos grupo de cirrose por HBV (G-III) apresentavam uma gravidade hepática moderada. Já, o grupo de cirrose por EHNA (G-IV), apresentou apenas 2 (29%) casos com gravidade hepática moderada. Entretanto, o grupo de cirrose criptogênica

(G-V), apresentou 12 (52%) casos com maior gravidade hepática (TABELA 8). Estes dados demonstraram ser significantes ( $p=0,030$ ), no qual o grupo de cirrose criptogênica apresentou maior número de casos com maior gravidade hepática.

Na avaliação do escore de MELD não observou-se diferença significativa entre os grupos (TABELA 9), mas pode-se observar que houve um predomínio de casos dos grupos G-II (2 casos/67%), G-III (6 casos/60%) e G-V (15 casos/65%) com uma taxa de 27% de mortalidade. Já, o grupo G-IV dos 7 casos totais 6 casos (86%) apresentavam com uma taxa de 83% de mortalidade.

**Tabela 8** - Distribuição dos grupos de cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, segundo a classificação Child-Pugh e MELD, Fortaleza-Ce, 2019.

|                   | Grupos         |      |              |     |              |     |                     |     | p-Valor      |
|-------------------|----------------|------|--------------|-----|--------------|-----|---------------------|-----|--------------|
|                   | Álcool<br>G-II |      | HBV<br>G-III |     | EHNA<br>G-IV |     | Criptogênica<br>G-V |     |              |
| <b>Child-Pugh</b> |                |      |              |     |              |     |                     |     |              |
| A                 | 0              | 0%   | 1            | 10% | 2            | 29% | 0                   | 0%  | <b>0,030</b> |
| B                 | 3*             | 100% | 8*           | 80% | 3            | 43% | 11                  | 48% |              |
| C                 | 0              | 0%   | 1            | 10% | 2*           | 29% | 12*                 | 52% |              |
| <b>MELD</b>       |                |      |              |     |              |     |                     |     |              |
| 1                 | 0              | 0%   | 1            | 10% | 1            | 14% | 0                   | 0%  | 0,401        |
| 2                 | 2              | 67%  | 6            | 60% | 0            | 0%  | 15                  | 65% |              |
| 3                 | 1              | 33%  | 3            | 30% | 6            | 86% | 6                   | 26% |              |
| 4                 | 0              | 0%   | 0            | 0%  | 0            | 0%  | 1                   | 4%  |              |
| 5                 | 0              | 0%   | 0            | 0%  | 0            | 0%  | 1                   | 4%  |              |

Dados apresentados como frequência absoluta e percentual, \* $p<0,05$ , teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Grupos: cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

Child-Pugh = prognóstico da doença hepática crônica.

MELD = Modelo para Doença Hepática Terminal.

A = 5-6 pontos (menor gravidade), B = 7-9 pontos (moderada gravidade); C = 10-15 pontos (maior gravidade); 1 = <10 (4% mortalidade); 2 = 10-19 (27% de mortalidade); 3 = 20-29 (76% mortalidade), 4 = 30- 39 (83% mortalidade); 5 = 40 ou mais (100% mortalidade).

#### 4.2 Análise da graduação histopatológica do estudo

Primeiramente, as amostras foram classificadas de acordo com os critérios de Ishak (1995) e estão discriminadas na Tabela 9. O grupo controle negativo (G-I) não apresentou nenhum grau de inflamação, necrose e fibrose. Todos os indivíduos dos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V apresentaram cirrose (F4 -86%).



A maioria dos casos apresentaram inflamação do tipo portal isolada leve, sendo 3 (100%) casos do grupo G-II, 5 (50%) do grupo G-III, 7 (100%) do grupo G-IV e 15 (65%) do grupo G-V, apresentando diferença significativa ( $p < 0,001$ ). A Necrose lítica focal, estava presente em um foco ou menos em 3 (30%) casos do grupo G-III, 3 casos do grupo G-IV e 12 (52%) casos do grupo G-V, não apresentando diferença significativa entre os grupos.

A inflamação portal foi classificada de grau 1 em três (100,0%) casos do grupo G-II, cinco (50%) casos do grupo G-III, sete (100,0%) casos do grupo G-IV e 16 (70,0%) casos do grupo G-V, sendo significativo entre os grupos ( $p < 0,001$ ).

Em relação ao grau de siderose, mostrou-se ausente em 41 indivíduos. Entretanto, os 3 (100%) casos do grupo G-II apresentaram grau III, sendo significativo ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 9** - Classificação da fibrose e da atividade necro-inflamatória dos indivíduos investigados, segundo a classificação Ishak, Fortaleza-Ce, 2019.

|                                 | Grupos        |      |                |      |              |      |              |      |                     |      | p-Valor |  |
|---------------------------------|---------------|------|----------------|------|--------------|------|--------------|------|---------------------|------|---------|--|
|                                 | Doador<br>G-I |      | Álcool<br>G-II |      | HBV<br>G-III |      | EHNA<br>G-IV |      | Criptogênica<br>G-V |      |         |  |
| <b>Fibrose portal</b>           |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| 0                               | 7             | 100% | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0                   | 0%   | <0,001  |  |
| 4                               | 0             | 0%   | 3*             | 100% | 10*          | 100% | 7*           | 100% | 23*                 | 100% |         |  |
| <b>Inflamação portal septal</b> |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| 0                               | 7*            | 100% | 0              | 0%   | 2            | 20%  | 0            | 0%   | 2                   | 9%   | <0,001  |  |
| 1                               | 0             | 0%   | 3*             | 100% | 5*           | 50%  | 7*           | 100% | 15*                 | 65%  |         |  |
| 2                               | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 2            | 20%  | 0            | 0%   | 5                   | 22%  |         |  |
| 3                               | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 1            | 10%  | 0            | 0%   | 1                   | 4%   |         |  |
| <b>Necrose confluyente</b>      |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| 0                               | 7             | 100% | 3              | 100% | 9            | 90%  | 7            | 100% | 23                  | 100% | 0,395   |  |
| 1                               | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 1            | 10%  | 0            | 0%   | 0                   | 0%   |         |  |
| <b>Necrose lítica focal</b>     |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| 0                               | 7             | 100% | 2              | 67%  | 5            | 50%  | 4            | 57%  | 8                   | 35%  | 0,170   |  |
| 1                               | 0             | 0%   | 1              | 33%  | 3            | 30%  | 3            | 43%  | 12                  | 52%  |         |  |
| 2                               | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 2            | 20%  | 0            | 0%   | 3                   | 13%  |         |  |
| <b>Inflamação portal</b>        |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| 0                               | 7*            | 100% | 0              | 0%   | 2            | 20%  | 0            | 0%   | 1                   | 4%   | <0,001  |  |
| 1                               | 0             | 0%   | 3*             | 100% | 5*           | 50%  | 7*           | 100% | 16*                 | 70%  |         |  |
| 2                               | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 2            | 20%  | 0            | 0%   | 5                   | 22%  |         |  |
| 3                               | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 1            | 10%  | 0            | 0%   | 1                   | 4%   |         |  |
| <b>Siderose grau</b>            |               |      |                |      |              |      |              |      |                     |      |         |  |
| Ausência                        | 7*            | 100% | 0              | 0%   | 8*           | 80%  | 5*           | 71%  | 21*                 | 91%  | <0,001  |  |
| Grau I                          | 0             | 0%   | 0              | 0%   | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 1                   | 4%   |         |  |

|          | Grupos        |                |              |              |                     |         |   |     |   |    |
|----------|---------------|----------------|--------------|--------------|---------------------|---------|---|-----|---|----|
|          | Doador<br>G-I | Álcool<br>G-II | HBV<br>G-III | EHNA<br>G-IV | Criptogênica<br>G-V | p-Valor |   |     |   |    |
| Grau II  | 0             | 0%             | 0            | 0%           | 1                   | 10%     | 2 | 29% | 1 | 4% |
| Grau III | 0             | 0%             | 3*           | 100%         | 1                   | 10%     | 0 | 0%  | 0 | 0% |

Dados apresentados como frequência absoluta e percentual, \* $p < 0,05$ , teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

Esteatose: 0 = ausente, 1 = discreta, sem formação de septos; 2 = com septos porta-porta.

Inflamação portal/septal: 0 = ausente ou raros; 1 = leve, focal com poucas áreas portal; 2 = Leve/moderada, focal com a maioria das áreas portal; 3 = Moderado, com <50% dos setores ou septos; 4 = Grave, com >50% dos setores ou septos.

Necrose confluyente: 0 = ausente; 1 = necrose confluyente focal; 2 = necrose de zona 3 em algumas áreas.

Necrose lítica focal: 0 = ausente; 1 = um foco ou menos; 2 = dois a quatro focos.

Na Tabela 10 foi sumarizado a avaliação do escore de Brunt (BRUNT *et al.*, 1999; BRUNT, 2004). A esteatose esteve presente em vinte e dois, variando de grau leve a moderado. Predominou o grau leve em dezoito (36,0%) casos, sendo 2 (29,0%) casos no grupo G-I, um (33%) caso no grupo G-II, 2 (20%) caso no grupo G-III, um (14%) caso no grupo G-IV e 12 (52%) casos no grupo G-V, mas não apresentaram diferença significativa entre os grupos.

Não houve significância nos grupos em relação a balonização, mas foi detectada em trinta e nove (78,0%) casos do número total da amostra. Pode-se destacar que houve presença ocasional na zona III em 4 (40%) casos do grupo G-III, 4 (57%) casos no grupo G-IV e treze (57%) casos no grupo G-V.

Em relação a inflamação lobular, apenas 14 (28%) do total de casos apresentaram de um a quatro focos por campo. Destes, a maioria apresentou neutrófilos dispersos e células mononucleares ocasionais, sendo dois (67%) casos do grupo G-II, 1 (10%) do grupo G-III, um (14%) do grupo G-IV e sete (30%) do grupo G-V, não sendo significativa nos grupos. A inflamação portal foi detectada em trinta (60%) casos do total da amostra, apresentando grau leve, sendo significativo entre os grupos ( $p < 0,001$ ). Destes, três (100%) eram do grupo G-II, quatro (40%) do grupo G-III, sete (100%) do grupo G-IV e 16 (70%) do grupo G-V. Todos os casos dos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V apresentaram estágio de cirrose, sendo significativo entre os grupos ( $p < 0,001$ ), com exceção do grupo G-I que apresentou apenas um (14%) caso com cirrose.

**Tabela 10** – Avaliação histológica dos indivíduos investigados segundo a classificação de Brunt, Fortaleza-Ce, 2019.

|                                  | Grupos |      |        |      |       |       |      |      |              |      | p-Valor |
|----------------------------------|--------|------|--------|------|-------|-------|------|------|--------------|------|---------|
|                                  | Doador |      | Álcool |      | HBV   |       | EHNA |      | Criptogênica |      |         |
|                                  | G-I    | G-I  | G-II   | G-II | G-III | G-III | G-IV | G-IV | G-V          | G-V  |         |
| <b>Esteatose</b>                 |        |      |        |      |       |       |      |      |              |      |         |
| 0                                | 5      | 71%  | 2      | 67%  | 7     | 70%   | 4    | 57%  | 10           | 43%  | 0,286   |
| 1                                | 2      | 29%  | 1      | 33%  | 2     | 20%   | 1    | 14%  | 12           | 52%  |         |
| 2                                | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 1     | 10%   | 2    | 29%  | 1            | 4%   |         |
| <b>Balonização hepatocelular</b> |        |      |        |      |       |       |      |      |              |      |         |
| 0                                | 3      | 43%  | 0      | 0%   | 4     | 40%   | 0    | 0%   | 4            | 17%  | 0,115   |
| 1                                | 1      | 14%  | 1      | 33%  | 4     | 40%   | 3    | 43%  | 13           | 57%  |         |
| 2                                | 3      | 43%  | 1      | 33%  | 2     | 20%   | 4    | 57%  | 5            | 22%  |         |
| 3                                | 0      | 0%   | 1      | 33%  | 0     | 0%    | 0    | 0%   | 1            | 4%   |         |
| <b>Inflamação lobular</b>        |        |      |        |      |       |       |      |      |              |      |         |
| 0                                | 7      | 100% | 1      | 33%  | 8     | 80%   | 6    | 86%  | 14           | 61%  | 0,285   |
| 1                                | 0      | 0%   | 2      | 67%  | 1     | 10%   | 1    | 14%  | 7            | 30%  |         |
| 2                                | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%    | 0    | 0%   | 2            | 9%   |         |
| 4                                | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 1     | 10%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   |         |
| <b>Inflamação portal</b>         |        |      |        |      |       |       |      |      |              |      |         |
| 0                                | 7*     | 100% | 0      | 0%   | 3     | 30%   | 0    | 0%   | 1            | 4%   | <0,001  |
| 1                                | 0      | 0%   | 3*     | 100% | 4*    | 40%   | 7*   | 100% | 16*          | 70%  |         |
| 2                                | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 2     | 20%   | 0    | 0%   | 5            | 22%  |         |
| 3                                | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 1     | 10%   | 0    | 0%   | 1            | 4%   |         |
| <b>Estágio</b>                   |        |      |        |      |       |       |      |      |              |      |         |
| 0                                | 7*     | 86%  | 0      | 0%   | 0     | 0%    | 0    | 0%   | 0            | 0%   | <0,001  |
| 4                                | 0      | 14%  | 3*     | 100% | 10*   | 100%  | 7*   | 100% | 23*          | 100% |         |

Dados apresentados como frequência absoluta e percentual, \* $p < 0,05$ , teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

Esteatose: 0= (ausente); 1 = Até 33% dos ácinos, principalmente macrovesiculares; 2 = Entre 34-66% dos ácinos, comumente esteatose mista.

Balonização hepatocelular: 0 = ausente; 1 = Ocasional na zona III; 2 = Óbvio na zona III; 3 = Marcado, predominantemente na zona III.

Inflamação lobular: 0 = ausente; 1 = Neutrófilos dispersos, células mononucleares ocasionais; 2 = 1 ou 2 focos; 3 = Neutrófilos associados aos hepatócitos em balão, leve; 4 = inflamação crônica, 3 ou 4 focos.

Inflamação portal: 0 = ausente; 1 = Leve, algumas áreas do portal; 2 = Leve a moderada, a maioria das áreas do portal; 3 = Moderada a severa, a maioria das áreas do portal.

Estágio: 0 = Sem fibrose; 4 = Cirrose.

Na avaliação do escore de NAS (KLEINER *et al.*, 2005) na Tabela 11, ao avaliar o grau de esteatose hepática não foi encontrada relação evidente de grau avançado. Porém, observou-se predomínio de grau leve de esteatose (grau 1) em 12 (52%) casos no grupo G-V, mas não obteve diferença significativa entre os grupos. A esteatose microvesicular estava ausente na maioria dos casos, não sendo significativa entre os grupos, mas foi detectada em 8 (35%) casos do grupo G-V.

Ao avaliar o estágio de fibrose, todos os casos dos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V estavam no estágio de cirrose (F4), sendo significativo ( $p < 0,001$ ). A inflamação lobular não foi significativa entre os grupos, porém, observou um predomínio de 6 (26%) do grupo G-V. Todos os casos não apresentaram presença de microgranuloma e lipogranuloma.

A inflamação portal foi ausente ou mínima em todos os casos dos grupos G-I, G-II, G-III e G-V, porém, cinco (71%) casos do grupo G-IV foram classificados como frequentes ( $p < 0,001$ ). A balonização foi detectada em vinte cinco (50%) casos da amostra total, não havendo relação significativa entre os grupos, porém evidenciaram-se na maioria dos casos poucas células com balonismo, sendo 11 (48%) casos do grupo G-V.

Além disso, 47 (94,0%) casos apresentaram corpos acidófilos ausentes à mínima, não havendo relação significativa entre os grupos. Em relação à presença de macrófagos, quarenta e seis (92,0%) casos ( $p = 0,003$ ) apresentaram ausência ou quantidades mínimas de macrófagos pigmentados. Porém, foi detectado uma frequência de macrófagos pigmentados em dois (67%) casos do grupo G-II.

Quanto a glicogenação, apenas cinco (10%) casos da amostra total mostrou-se presente, não havendo relação significativa. Em relação à classificação diagnóstica, obteve-se seis casos classificados como possível EHNA da amostra total, não havendo relação significativa, sendo um (33%) caso do grupo G-II, um (10%) caso do grupo G-III, um (14%) caso do grupo G-IV e três (13%) casos do grupo G-V.

**Tabela 11** – Graduação das alterações histológicas dos indivíduos de acordo com o escore de NAS, Fortaleza-Ce, 2019.

|                  | Grupos |      |        |      |     |     |      |     |              |     | p-Valor |  |
|------------------|--------|------|--------|------|-----|-----|------|-----|--------------|-----|---------|--|
|                  | Doador |      | Álcool |      | HBV |     | EHNA |     | Criptogênica |     |         |  |
|                  | G-I    | G-II | G-III  | G-IV | G-V | G-V | G-V  | G-V | G-V          |     |         |  |
| <b>Esteatose</b> |        |      |        |      |     |     |      |     |              |     |         |  |
| 0                | 4      | 57%  | 3      | 100% | 7   | 70% | 3    | 43% | 10           | 43% | 0,361   |  |
| 1                | 3      | 43%  | 0      | 0%   | 2   | 20% | 3    | 43% | 12           | 52% |         |  |
| 2                | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 1   | 10% | 0    | 0%  | 1            | 4%  |         |  |

|                                      | Grupos |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        | p-Valor |
|--------------------------------------|--------|------|--------|------|-------|------|------|------|--------------|------|--------|---------|
|                                      | Doador |      | Álcool |      | HBV   |      | EHNA |      | Criptogênica |      |        |         |
|                                      | G-I    |      | G-II   |      | G-III |      | G-IV |      | G-V          |      |        |         |
| 3                                    | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 1    | 14%  | 0            | 0%   |        |         |
| <b>Esteatose Microvesicular</b>      |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 6      | 86%  | 3      | 100% | 9     | 90%  | 7    | 100% | 15           | 65%  | 0,171  |         |
| 1                                    | 1      | 14%  | 0      | 0%   | 1     | 10%  | 0    | 0%   | 8            | 35%  |        |         |
| <b>Estágio fibrose</b>               |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7*     | 86%  | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   | <0,001 |         |
| 7                                    | 0      | 14%  | 3*     | 100% | 10*   | 100% | 7*   | 100% | 23*          | 100% |        |         |
| <b>Inflamação lobular</b>            |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7      | 100% | 1      | 33%  | 7     | 70%  | 6    | 86%  | 14           | 61%  | 0,224  |         |
| 1                                    | 0      | 0%   | 2      | 67%  | 1     | 10%  | 1    | 14%  | 6            | 26%  |        |         |
| 2                                    | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 2     | 20%  | 0    | 0%   | 3            | 13%  |        |         |
| <b>Microgranulomas</b>               |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7      | 100% | 3      | 100% | 10    | 100% | 7    | 100% | 23           | 100% | 1,000  |         |
| 1                                    | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   |        |         |
| <b>Lipogranulomas</b>                |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7      | 100% | 3      | 100% | 10    | 100% | 7    | 100% | 23           | 100% | 1,000  |         |
| 1                                    | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   |        |         |
| <b>Inflamação portal</b>             |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7*     | 100% | 3*     | 100% | 9*    | 90%  | 2    | 29%  | 23*          | 100% | <0,001 |         |
| 1                                    | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 1     | 10%  | 5*   | 71%  | 0            | 0%   |        |         |
| <b>Balonismo</b>                     |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 4      | 57%  | 0      | 0%   | 5     | 50%  | 4    | 57%  | 9            | 39%  | 0,322  |         |
| 1                                    | 0      | 0%   | 2      | 67%  | 3     | 30%  | 2    | 29%  | 11           | 48%  |        |         |
| 2                                    | 3      | 43%  | 1      | 33%  | 2     | 20%  | 1    | 14%  | 3            | 13%  |        |         |
| <b>Corpos acidófilos</b>             |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7      | 100% | 3      | 100% | 9     | 90%  | 7    | 100% | 21           | 91%  | 0,797  |         |
| 1                                    | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 1     | 10%  | 0    | 0%   | 2            | 9%   |        |         |
| <b>Macrófagos pigmentados</b>        |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7*     | 100% | 1      | 33%  | 9*    | 90%  | 7*   | 100% | 22*          | 96%  | 0,003  |         |
| 1                                    | 0      | 0%   | 2*     | 67%  | 1     | 10%  | 0    | 0%   | 1            | 4%   |        |         |
| <b>Megamitocôndria</b>               |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7      | 100% | 2      | 67%  | 10    | 100% | 5    | 71%  | 22           | 96%  | 0,074  |         |
| 1                                    | 0      | 0%   | 1      | 33%  | 0     | 0%   | 2    | 29%  | 1            | 4%   |        |         |
| <b>Corpúsculo hialino de mallory</b> |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |        |         |
| 0                                    | 7      | 100% | 3      | 100% | 10    | 100% | 7    | 100% | 23           | 100% | 1,000  |         |

|                                  | Grupos |      |        |     |       |     |      |     |              |     |       | p-Valor |
|----------------------------------|--------|------|--------|-----|-------|-----|------|-----|--------------|-----|-------|---------|
|                                  | Doador |      | Álcool |     | HBV   |     | EHNA |     | Criptogênica |     |       |         |
|                                  | G-I    |      | G-II   |     | G-III |     | G-IV |     | G-V          |     |       |         |
| <b>Glicogenação</b>              |        |      |        |     |       |     |      |     |              |     |       |         |
| 0                                | 7      | 100% | 2      | 67% | 9     | 90% | 6    | 86% | 21           | 91% | 0,595 |         |
| 1                                | 0      | 0%   | 1      | 33% | 1     | 10% | 1    | 14% | 2            | 9%  |       |         |
| <b>Classificação diagnóstica</b> |        |      |        |     |       |     |      |     |              |     |       |         |
| 0                                | 7      | 100% | 2      | 67% | 9     | 90% | 6    | 86% | 20           | 87% | 0,673 |         |
| 1                                | 0      | 0%   | 1      | 33% | 1     | 10% | 1    | 14% | 3            | 13% |       |         |

Dados apresentados como frequência absoluta e percentual, \*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

Grau de esteatose: 0 = <5%; 1 = 5 – 33%; 2 = 33-66%; 3 = >66%.

Esteatose microvesicular: 0 = ausente; 1 = presente. Estágio de fibrose: 0 = ausente; 7 = Cirrose. Inflamação lobular: 0 = sem foco; 1 = <2 focos por campo; 2 = 2-4 focos por campo. Microgranulomas: 0 = ausente; 1 = presente. Lipogranulomas: 0 = ausente; 1 = presente. Inflamação portal: 0 = Ausente à mínima; 1 = Frequente. Balonismo 0 = ausente; 1 = poucas células com balonização; 2 = Muitas células / balonização proeminente. Corpos acidófilos: 0 = Ausente à mínima; 1 = Frequente. Macrófagos pigmentados: 0 = Ausente a mínima; 1 = Frequente. Megamitocôndria: 0 = Ausente a mínima; 1 = Frequente. Corpúsculo hialino de Mallory: 0 = Ausente à mínima; 1 = Frequente. Glicogenação: 0 = Ausente a mínima; 1 = Frequente. Classificação diagnóstica: 0 = Não esteato-hepatite; 1 = Possível / limítrofe.

### 4.3 Avaliação imuno-histoquímica do estudo

As células imunomarcadas foram evidenciadas ao microscópio de luz com uma pigmentação que variava de castanho claro a marrom. A Tabela 12, demonstra a positividade intra-hepática do PPAR $\gamma$  e PPAR $\beta/\delta$  nos grupos G-I, G-II, G-III, G-IV e G-V.

Ao analisar o anticorpo anti-HBV core (TABELA 7), em dois casos (20%) houve uma intensidade de coloração citoplasmática forte (escore 3) em 100% das células no grupo G-III, ocorrendo a validação do anticorpo no grupo de cirrose por HBV (FIGURA 9).

A intensidade de coloração citoplasmática do NF- $\kappa$ B foi elevada (escore 3) nos grupos G-I, G-II, G-III, G-IV e G-V. Porém, o grupo G-I apresentou uma frequência em 51 – 75% das células. Já, os grupos G-II, G-III, G-IV e G-V apresentaram uma frequência em 100% das células (FIGURA 8). Esses resultados demonstraram que o NF- $\kappa$ B apresentou uma relação de coloração forte no citoplasma (p<0,001) em todos os grupos (TABELA 12).

**Tabela 12** - Análise da expressão dos anticorpos HBV-core e NF-κB nas amostras de TMAs nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.

|                                 | Grupos |      |        |      |       |      |      |      |              |      |                  | p-Valor |
|---------------------------------|--------|------|--------|------|-------|------|------|------|--------------|------|------------------|---------|
|                                 | Doador |      | Álcool |      | HBV   |      | EHNA |      | Criptogênica |      |                  |         |
|                                 | G-I    |      | G-II   |      | G-III |      | G-IV |      | G-V          |      |                  |         |
| <b>Anti HB-core citoplasma</b>  |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |                  |         |
| 0                               | 7      | 100% | 3      | 100% | 8     | 80%  | 7    | 100% | 23           | 100% | 0,080            |         |
| 3                               | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 2     | 20%  | 0    | 0%   | 0            | 0%   |                  |         |
| <b>Anti HBV-core núcleo</b>     |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |                  |         |
| 0                               | 7      | 100% | 3      | 100% | 10    | 100% | 7    | 100% | 23           | 100% | 1,000            |         |
| 1                               | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   |                  |         |
| <b>Anti HBV-core frequência</b> |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |                  |         |
| 0                               | 7      | 100% | 3      | 100% | 8     | 80%  | 7    | 100% | 23           | 100% | 0,080            |         |
| 4                               | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 2     | 20%  | 0    | 0%   | 0            | 0%   |                  |         |
| <b>Anti NF-κB citoplasma</b>    |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |                  |         |
| 1                               | 1*     | 14%  | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   | <b>0,015</b>     |         |
| 2                               | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 2    | 29%  | 0            | 0%   |                  |         |
| 3                               | 6      | 86%  | 3*     | 100% | 10*   | 100% | 5*   | 71%  | 23*          | 100% |                  |         |
| <b>Anti NF-κB núcleo</b>        |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |                  |         |
| 0                               | 7      | 100% | 3      | 100% | 10    | 100% | 7    | 100% | 23           | 100% | 1,000            |         |
| 1                               | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   |                  |         |
| <b>Anti NF-κB frequência</b>    |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |                  |         |
| 2                               | 2      | 29%  | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 1    | 14%  | 0            | 0%   | <b>&lt;0,001</b> |         |
| 3                               | 5*     | 71%  | 1      | 33%  | 0     | 0%   | 3    | 43%  | 3            | 13%  |                  |         |
| 4                               | 0      | 0%   | 2*     | 67%  | 10*   | 100% | 3*   | 43%  | 20*          | 87%  |                  |         |

Dados apresentados como frequência absoluta e percentual, \*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

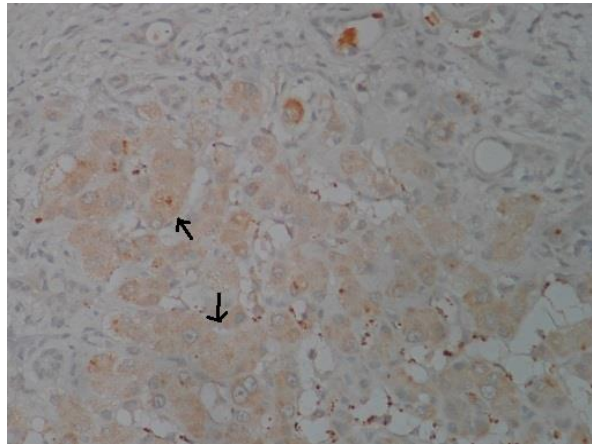
Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

Anti-HBV core = anticorpos totais contra o “core” (núcleo) do vírus da Hepatite B; anti-NFκB = anticorpo contra o factor nuclear kappa B.

Intensidade da coloração: 1= fraca; 2 = moderada; 3 = forte.

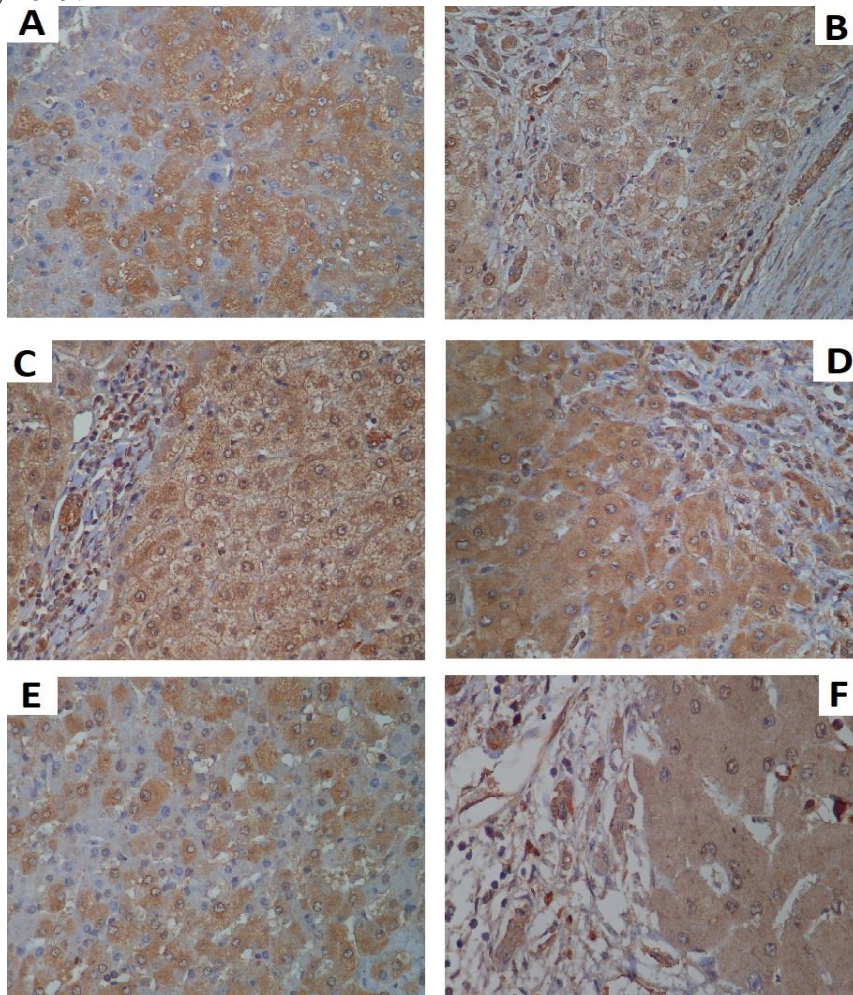
Frequência de imuno-expressão: 1 = 5-25% das células positivas; 2 = 26-50% das células positivas; 3 = 51-75% das células positivas; 4 = 76-100% de células positivas.

**Figura 7** – Imuno-expressão citoplasmática do HBV-core nas células hepáticas de cirrose por HBV, Fortaleza-Ce, 2019.



As setas na cor preta indicam a marcação positivas. Intensidade de coloração forte. Aumento de 400x

**Figura 8** – Imuno-expressão citoplasmática do NF- $\kappa$ B nas células hepáticas nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.



(A) fígado normal (doador); (B) cirrose por álcool; (C) cirrose por HBV; (D) cirrose por EHNA; (E) cirrose criptogênica e (F) cirrose criptogênica. Intensidade de coloração de forte em 75-100% das células. Aumento de 400x (A, B, C, D, E e F).



O PPAR $\gamma$  apresentou uma fraca intensidade de coloração no citoplasma (escore 1) no grupo G-I em 51-100% das células. Contudo, os grupos G-II, G-III, G-IV e G-V apresentaram uma intensidade de coloração fraca a moderada (escores 1 e 2) no citoplasma em 100% das células (FIGURA 9). Podendo deduzir que o anticorpo PPAR $\gamma$  apresentou uma intensidade de coloração menor no grupo do doador em comparação aos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, sendo estatisticamente significativo ( $p=0,016$ ).

O PPAR $\beta/\delta$  apresentou maior número de casos na porcentagem de células com intensidade de coloração citoplasmática moderada (escore 2) no grupo G-I e G-IV em 26-50% das células. Já os grupos G-II, G-III e G-V apresentaram uma intensidade de coloração citoplasmática forte (grau 3) citoplasmática em 26-50% das células (FIGURA 10). Esses resultados demonstraram diferença significativa em relação a intensidade de coloração do citoplasma ( $p=0,001$ ), podendo verificar que o grupo do doador e o de cirrose por EHNA apresentaram uma menor intensidade de coloração em relação aos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV e cirrose criptogênica (TABELA 13).

**Tabela 13** - Análise da expressão imuno-histoquímica dos anticorpos PPAR $\gamma$  e PPAR $\delta$  nas amostras de TMAs nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.

|  | Grupos |      |        |      |       |      |      |      |              |      | p-Valor      |
|--|--------|------|--------|------|-------|------|------|------|--------------|------|--------------|
|  | Doador |      | Álcool |      | HBV   |      | EHNA |      | Criptogênica |      |              |
|  | G-I    |      | G-II   |      | G-III |      | G-IV |      | G-V          |      |              |
| <b>Anti-PPAR<math>\gamma</math> citoplasma</b> |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |              |
| 0  | 2      | 29%  | 0      | 0%   | 4     | 40%  | 2    | 29%  | 1            | 4%   | 0,303        |
| 1  | 5      | 71%  | 1      | 33%  | 4     | 40%  | 3    | 43%  | 16           | 70%  |              |
| 2  | 0      | 0%   | 2      | 67%  | 2     | 20%  | 2    | 29%  | 5            | 22%  |              |
| 3  | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 1            | 4%   |              |
| <b>Anti-PPAR<math>\gamma</math> núcleo</b>     |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |              |
| 0  | 7      | 100% | 3      | 100% | 10    | 100% | 7    | 100% | 23           | 100% | 1,000        |
| 1  | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   |              |
| <b>Anti-PPAR<math>\gamma</math> frequência</b> |        |      |        |      |       |      |      |      |              |      |              |
| 0  | 2      | 29%  | 0      | 0%   | 4     | 40%  | 2    | 29%  | 1            | 4%   | <b>0,016</b> |
| 2  | 1      | 14%  | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 1            | 4%   |              |
| 3  | 2*     | 29%  | 0      | 0%   | 0     | 0%   | 0    | 0%   | 0            | 0%   |              |
| 4  | 2      | 29%  | 3*     | 100% | 6*    | 60%  | 5*   | 71%  | 21*          | 91%  |              |

|   | Grupos |      |        |      |       |       |      |      |              |      |              |  |
|---|--------|------|--------|------|-------|-------|------|------|--------------|------|--------------|--|
|   | Doador |      | Álcool |      | HBV   |       | EHNA |      | Criptogênica |      | p-Valor      |  |
|   | G-I    | G-I  | G-II   | G-II | G-III | G-III | G-IV | G-IV | G-V          | G-V  |              |  |
| <b>PPAR<math>\beta/\delta</math> citoplasma</b> |        |      |        |      |       |       |      |      |              |      |              |  |
| 1   | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%    | 1    | 14%  | 0            | 0%   | <b>0,001</b> |  |
| 2   | 5*     | 71%  | 0      | 0%   | 1     | 10%   | 4*   | 57%  | 2            | 9%   |              |  |
| 3   | 2      | 29%  | 3*     | 100% | 9*    | 90%   | 2    | 29%  | 21*          | 91%  |              |  |
| <b>PPAR<math>\beta/\delta</math> núcleo</b>     |        |      |        |      |       |       |      |      |              |      |              |  |
| 0   | 7      | 100% | 3      | 100% | 10    | 100%  | 7    | 100% | 23           | 100% | 1,000        |  |
| 1   | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%    | 0    | 0%   | 0            | 0%   |              |  |
| <b>PPAR<math>\beta/\delta</math> frequência</b> |        |      |        |      |       |       |      |      |              |      |              |  |
| 0   | 0      | 0%   | 0      | 0%   | 0     | 0%    | 0    | 0%   | 0            | 0%   | 1,000        |  |
| 2   | 7      | 100% | 3      | 100% | 10    | 100%  | 7    | 100% | 23           | 100% |              |  |

\* $p < 0,05$ , teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

Anti-PPAR $\gamma$  = anticorpo receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama; Anti-PPAR $\delta$  = anticorpo receptor ativado por proliferadores de peroxissoma delta.

Intensidade da coloração: 1 = fraca; 2 = moderada; 3 = forte.

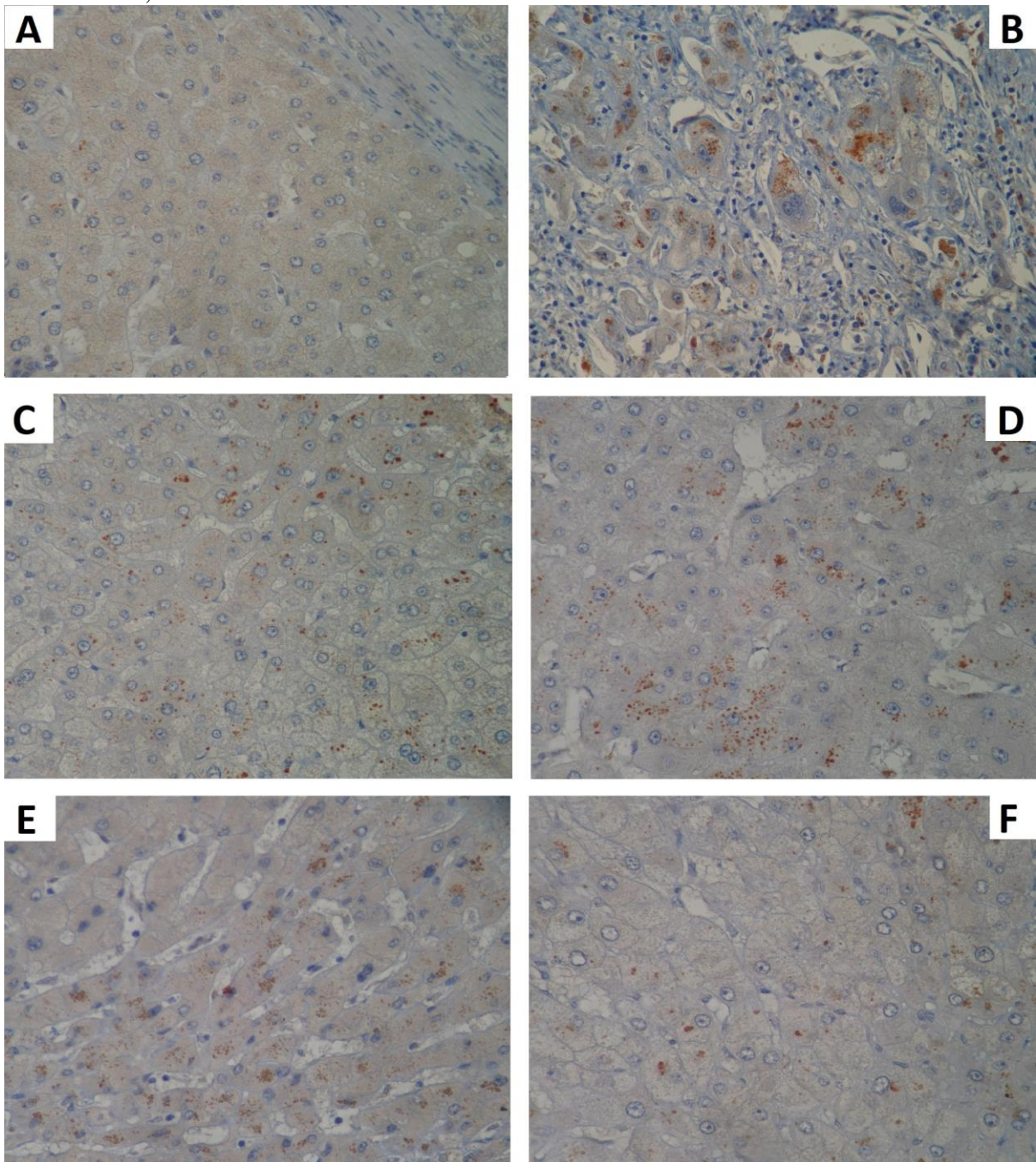
Frequência de imuno-expressão: 1 = 5-25% das células positivas; 2 = 26-50% das células positivas; 3 = 51-75% das células positivas; 4 = 76-100% de células positivas.

As reações imuno-histoquímicas dos anticorpos foram avaliados quanto a sua porcentagem de expressão nas células hepáticas (PPAR $\gamma$ , PPAR $\beta/\delta$  e NF- $\kappa$ B), nas células de kupffer e no espaço periportal/sinusoidal (IL-6) entre os grupos de estudo, sendo possível visualizar na Tabela 14.

Primeiramente, o PPAR $\gamma$  apresentou-se maior frequência de imuno-expressão nos hepatócitos no grupo G-V (4,19 $\pm$ 1,44) versus grupo G-I (2,57 $\pm$ 1,81). Considerando, assim, que o PPAR $\gamma$  estava mais expresso nos fígados com cirrose criptogênica do que nos fígados normais, sendo estatisticamente significante ( $p=0,009$ ).

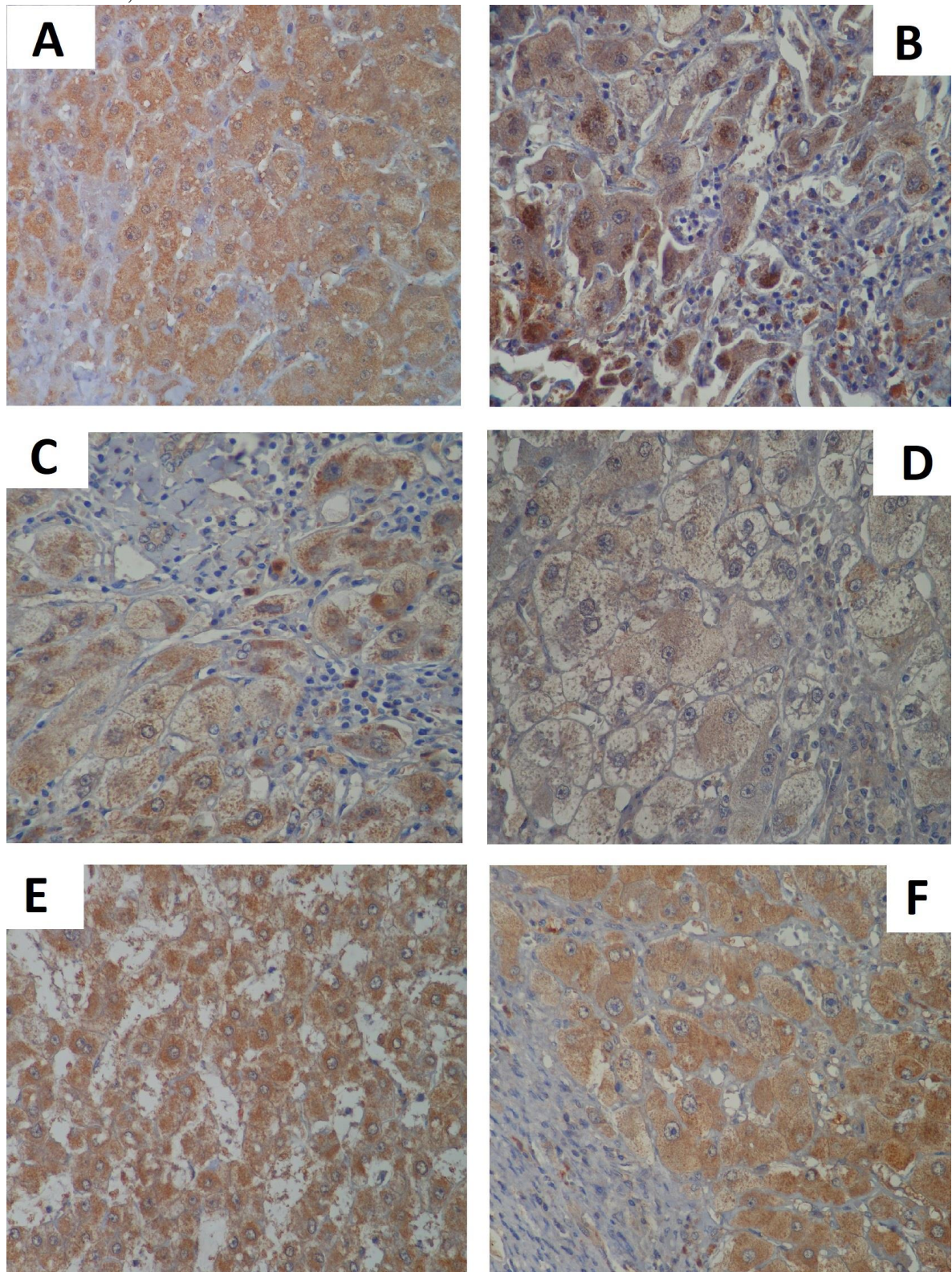
Ao analisar a porcentagem da expressão do PPAR $\beta/\delta$ , observou-se uma maior frequência de imuno-expressão nos hepatócitos nos grupos G-II (4,83 $\pm$ 0,29), G-III (4,90 $\pm$ 0,32) e G-V (4,70 $\pm$ 0,47) versus o grupo G-I (3,43 $\pm$ 1,13). Podendo relatar que, os fígados com cirrose por álcool, cirrose por HBV e cirrose criptogênica apresentam uma expressão mais evidenciada do PPAR $\beta/\delta$  do que nos fígados normais, ( $p < 0,001$ ).

**Figura 9** – Imunoexpressão citoplasmática do PPAR $\gamma$  nas células hepáticas nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.



(A) fígado normal (doador); (B) cirrose por álcool; (C) cirrose por HBV; (D) cirrose por EHNA; (E) cirrose criptogênica; (F) cirrose criptogênica. Intensidade de coloração de fraca a moderada em 51-100% das células. Aumento de 400x (A, B, C, D, E e F).

**Figura 10** – Imuno-expressão citoplasmática do PPAR $\beta/\delta$  nas células hepáticas nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.



(A) fígado normal (doador); (B) cirrose por álcool; (C) cirrose por HBV; (D) cirrose por EHNA; (E) cirrose criptogênica; (F) cirrose criptogênica. Intensidade de coloração de moderada a forte em 26-50% das células (A e D). Intensidade de coloração de moderada em 75-100% das células (B, C, E e F). Aumento de 400x (A, B, C, D, E e F).

Quanto a análise da porcentagem de expressão do NF- $\kappa$ B (TABELA 14), observou-se uma maior frequência de imuno-expressão no grupo G-II (5,00 $\pm$ 0,00) versus o grupo G-I (4,14 $\pm$ 0,90). Verificando, assim, que os fígados com cirrose por álcool (G-II) apresentaram uma expressão mais elevada do anticorpo do que os fígados normais (G-I), (p<0,05).

Ao analisar a porcentagem de expressão da IL-6 nas células de kupffer, verificou-se uma maior frequência de imuno-expressão nos grupos G-II (6,50 $\pm$ 4,58) e G-IV (7,86 $\pm$ 1,65) versus o grupo G-I (4,29 $\pm$ 2,43). Podendo relatar que, houve uma maior expressão da IL-6 nas células de kupffer nos fígados de cirrose por álcool e cirrose por EHNA em comparação aos fígados normais, (p<0,001).

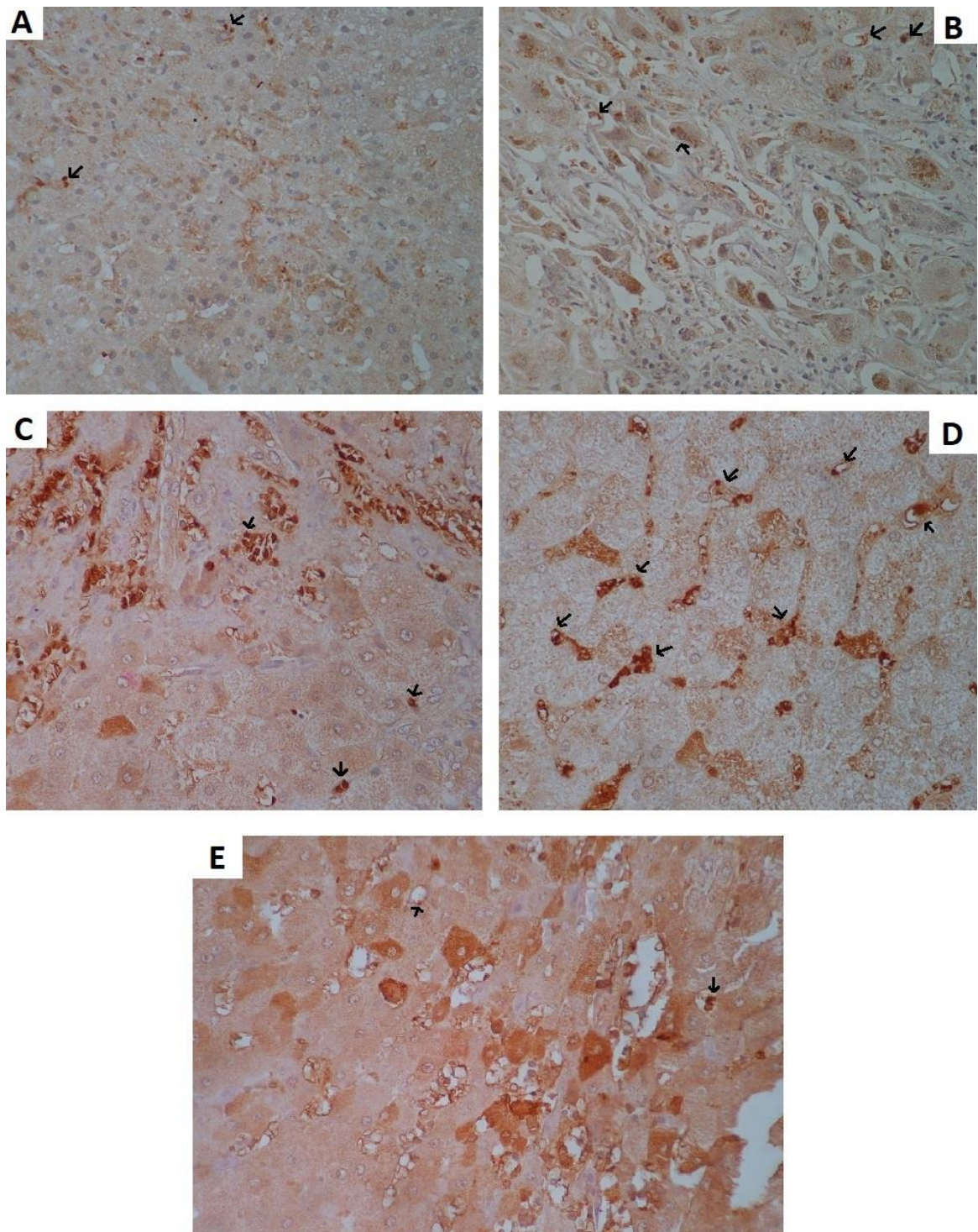
Quanto a porcentagem de expressão da IL-6 no espaço periportal/sinusoidal, evidenciou-se uma maior imuno-expressão nos grupos G-II (3,50 $\pm$ 4,09), G-III (2,00 $\pm$ 1,94) e G-IV (1,57 $\pm$ 1,24) versus o grupo G-I (0,00 $\pm$ 0,00). Demonstrando, assim, que os fígados com cirrose por álcool, cirrose por HBV e cirrose por EHNA apresentam uma expressão mais elevada no espaço periportal/sinusoidal que os fígados normais, (p<0,05), Figura 11.

**Tabela 14** – Análise da imuno-expressão dos anticorpos entre os grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.

|                                      | Grupos          |                              |                              |                              |                              | p-Valor          |
|--------------------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------|
|                                      | Doador<br>G-I   | Álcool<br>G-II               | HBV<br>G-III                 | EHNA<br>G-IV                 | Criptogênica<br>G-V          |                  |
| <b>PPAR<math>\gamma</math></b>       | 2,57 $\pm$ 1,81 | 5,00 $\pm$ 0,00              | 2,00 $\pm$ 1,97              | 3,57 $\pm$ 2,44              | 4,19 $\pm$ 1,44 <sup>a</sup> | <b>0,009</b>     |
| <b>PPAR<math>\beta/\delta</math></b> | 3,43 $\pm$ 1,13 | 4,83 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup> | 4,90 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup> | 3,86 $\pm$ 1,31              | 4,70 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup> | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>NF-<math>\kappa</math>B</b>       | 4,14 $\pm$ 0,90 | 5,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup> | 4,80 $\pm$ 0,26              | 4,14 $\pm$ 0,63              | 4,59 $\pm$ 0,49              | <b>0,026</b>     |
| <b>IL6 kupffer</b>                   | 4,29 $\pm$ 2,43 | 6,50 $\pm$ 4,58 <sup>a</sup> | 4,50 $\pm$ 2,39              | 7,86 $\pm$ 1,65 <sup>a</sup> | 4,02 $\pm$ 2,04              | <b>0,005</b>     |
| <b>IL6 P/S</b>                       | 0,00 $\pm$ 0,00 | 3,50 $\pm$ 4,09 <sup>a</sup> | 2,00 $\pm$ 1,94 <sup>a</sup> | 1,57 $\pm$ 1,24 <sup>a</sup> | 0,89 $\pm$ 1,26              | <b>0,013</b>     |

Teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson. <sup>a</sup>p<0,05 versus doador; <sup>c</sup>p<0,05 versus HBV; (média  $\pm$  DP). Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V. Anti-PPAR $\gamma$  = anticorpo receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama; Anti-PPAR $\delta$  = anticorpo receptor ativado por proliferadores de peroxissoma delta; Anti-HBV-core = anticorpos totais contra o “core” (núcleo) do vírus da Hepatite B; Anti-NF- $\kappa$ B = anticorpo contra o factor nuclear kappa B; Anti-IL6 = anticorpo contra a interleucina 6; IL-6 P/S = anticorpo contra a interleucina 6 periportal/sinusoidal.

**Figura 11** – Imuno-expressão da IL-6 nos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.



As setas na cor preta indicam a marcação positivas. (A) fígado normal, células de kupffer; (B) cirrose por álcool, células de kupffer; (C) cirrose por HBV, células de kupffer; (D) cirrose por EHNA, células de kupffer; (E) cirrose criptogênica, células de kupffer. Aumento de 400x.

#### 4.4 Caracterização laboratorial do estudo

Os parâmetros bioquímicos foram analisados de acordo com os valores de referência classificados com baixo, normal e elevado em cada grupo. Também foi realizada uma análise das médias dos principais exames laboratoriais entre os grupos G-I, G-II, G-III, G-IV e G-V. As análises dos dados bioquímicos entre os grupos podem ser visualizadas nas Tabelas 15, 16, 17 e 18.

Em alguns parâmetros bioquímicos foi possível analisar os valores no início do acompanhamento e no pré transplante de fígado (pré TX) dos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V, tal como os parâmetros séricos do sódio, potássio, glicose, bilirrubina (BT, BD e BI), ALT, AST, GGT e a FA (TABELA 15).

Frente às análises dos valores de referências dos parâmetros bioquímicos (TABELA 15), verificou-se que, os grupos G-I (71,4%), G-II (100%) e G-III (50%) apresentavam valores de glicemia elevados no início do acompanhamento. Já, os grupos G-IV (85,7%) e G-V (82,6%) apresentavam valores de glicemia normais. Estes valores foram significativos ( $p=0,012$ ). Ao avaliar os parâmetros dos níveis de glicose no pré TX, observou-se um número maior de indivíduos com a glicemia elevada no grupo G-V (43,5%) ao comparar com o número no início do acompanhamento (17,4%), mas não apresentou diferença significativa.

Quanto às análises da bilirrubina, observou-se que a BT, BD e a BI ( $p=0,006$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,0012$ , respectivamente) eram significativamente mais elevadas nos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V. Já, o grupo G-I apresentou-se valores normais na maioria dos casos.

Nas análises das transaminases ALT e AST, não foi identificada significância estatística no início, porém, observou-se que 4 (57,1%) casos do grupo G-IV e 13 (56,5%) casos do grupo G-V apresentavam valores elevados de ALT. Quanto aos valores de AST, verificou-se um maior número de casos elevados no grupo G-II (100%), G-III (60%), G-IV (100%), e G-V (87,0%).

Em relação aos valores da GGT no início do acompanhamento, verificou-se que, a maioria dos casos do grupo G-I (57,1%) apresentava valores normais e os grupos G-II (100%), G-III (60%), G-IV (57,1%) e G-V (91,1%) apresentavam valores elevados, sendo significativo ( $p=0,037$ ). Já, os níveis da FA estavam dentro dos valores normais maioria dos casos dos grupos G-I, G-II, G-III, G-IV e G-V. Os valores de ureia apresentaram-se normais na maioria dos casos dos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V.

Não foram observadas diferenças nos valores da creatinina sérica nos grupos, a maioria dos casos do estudo apresentaram níveis normais no início e no pré TX. Também,

nenhuma diferença estatística foi observada na albumina, porém, a maioria dos casos dos grupos G-IV (57,1%; 71,4%) e G-V (52,1%; 65,2%) apresentaram valores baixos no início do acompanhamento e no pré TX (TABELA 15).

Frente aos valores da globulina e proteínas totais, encontraram-se níveis normais nos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V. Quanto aos níveis de sódio no início, observaram-se níveis normais nos grupos G-I (42,9%), G-II (100%), G-III (90%) e G-V (73,9%). Já, em relação aos níveis de sódio no início e no pré TX foi observado uma diminuição nos grupos G-IV (42,9%; 57,1%). O grupo G-II (66,7%) apresentou-se com um número maior de casos com níveis baixos no pré TX. Esses valores foram significativos ( $p=0,009$ ;  $p=0,010$ ).

A maioria dos casos do grupo G-I (57,1%) apresentaram níveis baixos de potássio e os demais grupos encontraram-se com valores normais (G-II, G-III, G-IV e G-V),  $p=0,025$ . Não houve diferença nos níveis de cálcio total, cálcio iônico, magnésio e alfa-fetoproteína nos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V. Quanto aos valores do colesterol, observaram-se níveis normais nos grupos G-II (66,7%); G-III (100%) e G-V (81%) e níveis baixos no grupo G-IV (57,1%),  $p=0,026$ .

Os valores de LDL-c, VLDL-c e TG estavam normais na maioria dos casos dos grupos G-III, G-IV e G-V. O grupo G-II, apresentou níveis normais de VLDL-c e TG, porém, com níveis elevados de LDL-c. Verificou-se um valor baixo do HDL-c na maioria dos casos dos grupos G-III, G-IV e G-V e níveis baixos de fibrinogênio nos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V. No entanto, esses valores não apresentaram significância estatística.

Frente aos níveis de hemoglobina e hematócrito foram verificados níveis normais na maioria dos casos do grupo G-I e níveis baixos nos grupos G-II, G-III, G-IV e G-V ( $p<0,001$ ;  $p=0,001$ ). Os níveis de plaquetas estavam baixos na maioria dos casos em todos os grupos, porém, não apresentou significância estatística. Os seguintes parâmetros: albumina, proteínas totais, globulina, cálcio iônico, magnésio, alfa-fetoproteína, CT, LDL-c, VLDL-c, TG, HDL-c e fibrinogênio, não estavam disponíveis para a análise, no grupo G-I (TABELA 15).



**Tabela 15** – Distribuição dos parâmetros laboratoriais no início do acompanhamento e no pré-transplante dos grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.

|                            | Grupos        |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
|----------------------------|---------------|--------|----------------|--------|--------------|-------|--------------|--------|---------------------|-------|--------------|
|                            | Doador<br>G-I |        | Álcool<br>G-II |        | HBV<br>G-III |       | EHNA<br>G-IV |        | Criptogênica<br>G-V |       |              |
| <b>Glic início (mg/dL)</b> |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Baixo                      | 0             | 0,0%   | 0              | 0,0%   | 1            | 10,0% | 0            | 0,0%   | 0                   | 0,0%  | <b>0,012</b> |
| Normal                     | 2*            | 28,6%  | 0              | 0,0%   | 4*           | 40,0% | 6*           | 85,7%  | 19*                 | 82,6% |              |
| Aumentado                  | 5             | 71,4%  | 3*             | 100,0% | 5            | 50,0% | 1            | 14,3%  | 4                   | 17,4% |              |
| <b>Glic TX (mg/dL)</b>     |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Baixo                      | 0             | 0,0%   | 0              | 0,0%   | 1            | 10,0% | 0            | 0,0%   | 0                   | 0,0%  | 0,249        |
| Normal                     | 0             | 0,0%   | 0              | 0,0%   | 3            | 30,0% | 4            | 57,1%  | 13                  | 56,5% |              |
| Aumentado                  | 0             | 0,0%   | 3              | 100,0% | 6            | 60,0% | 3            | 42,9%  | 10                  | 43,5% |              |
| <b>BT início (mg/dL)</b>   |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 6*            | 85,7%  | 0              | 0,0%   | 2            | 20,0% | 2            | 28,6%  | 4                   | 17,4% | <b>0,006</b> |
| Aumentado                  | 1             | 14,3%  | 3*             | 100,0% | 8*           | 80,0% | 5*           | 71,4%  | 19*                 | 82,6% |              |
| <b>BD início (mg/dL)</b>   |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 6*            | 85,7%  | 0              | 0,0%   | 3            | 30,0% | 3            | 42,9%  | 2                   | 8,7%  | <b>0,001</b> |
| Aumentado                  | 1             | 14,3%  | 3*             | 100,0% | 7*           | 70,0% | 4*           | 57,1%  | 21*                 | 91,3% |              |
| <b>BI (mg/dL)</b>          |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 7*            | 100,0% | 1              | 33,3%  | 4            | 40,0% | 2            | 28,6%  | 6                   | 26,1% | <b>0,012</b> |
| Aumentado                  | 0             | 0,0%   | 2*             | 66,7%  | 6*           | 60,0% | 5*           | 71,4%  | 17*                 | 73,9% |              |
| <b>BT TX (mg/dL)</b>       |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 0             | 0,0%   | 0              | 0,0%   | 2            | 20,0% | 2            | 28,6%  | 2                   | 8,7%  | 0,463        |
| Aumentado                  | 0             | 0,0%   | 3              | 100,0% | 8            | 80,0% | 5            | 71,4%  | 21                  | 91,3% |              |
| <b>BD TX (mg/dL)</b>       |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 0             | 0,0%   | 0              | 0,0%   | 4            | 40,0% | 2            | 28,6%  | 2                   | 8,7%  | 0,129        |
| Aumentado                  | 0             | 0,0%   | 3              | 100,0% | 6            | 60,0% | 5            | 71,4%  | 21                  | 91,3% |              |
| <b>BI TX (mg/dL)</b>       |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 0             | 0,0%   | 0              | 0,0%   | 3            | 30,0% | 2            | 28,6%  | 5                   | 21,7% | 0,728        |
| Aumentado                  | 0             | 0,0%   | 3              | 100,0% | 7            | 70,0% | 5            | 71,4%  | 18                  | 78,3% |              |
| <b>ALT início (U/L)</b>    |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 2             | 28,6%  | 2              | 66,7%  | 6            | 60,0% | 3            | 42,9%  | 10                  | 43,5% | 0,690        |
| Aumentado                  | 5             | 71,4%  | 1              | 33,3%  | 4            | 40,0% | 4            | 57,1%  | 13                  | 56,5% |              |
| <b>ALT TX (U/L)</b>        |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 0             | 0,0%   | 1              | 33,3%  | 7            | 70,0% | 3            | 42,9%  | 9                   | 39,1% | 0,397        |
| Aumentado                  | 0             | 0,0%   | 2              | 66,7%  | 3            | 30,0% | 4            | 57,1%  | 14                  | 60,9% |              |
| <b>AST início (U/L)</b>    |               |        |                |        |              |       |              |        |                     |       |              |
| Normal                     | 1             | 14,3%  | 0              | 0,0%   | 4            | 40,0% | 0            | 0,0%   | 3                   | 13,0% | 0,174        |
| Aumentado                  | 6             | 85,7%  | 3              | 100,0% | 6            | 60,0% | 7            | 100,0% | 20                  | 87,0% |              |

|                          | Grupos |       |        |        |       |        |      |        |              |       | p-Valor      |
|--------------------------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|------|--------|--------------|-------|--------------|
|                          | Doador |       | Álcool |        | HBV   |        | EHNA |        | Criptogênica |       |              |
|                          | G-I    |       | G-II   |        | G-III |        | G-IV |        | G-V          |       |              |
| <b>AST TX (U/L)</b>      |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Normal                   | 0      | 0,0%  | 1      | 33,3%  | 6     | 60,0%  | 2    | 28,6%  | 4            | 17,4% | 0,111        |
| Aumentado                | 0      | 0,0%  | 2      | 66,7%  | 4     | 40,0%  | 5    | 71,4%  | 19           | 82,6% |              |
| <b>GGT início (U/L)</b>  |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Normal                   | 4*     | 57,1% | 0      | 0,0%   | 4*    | 40,0%  | 3*   | 42,9%  | 2            | 8,7%  | <b>0,037</b> |
| Aumentado                | 3      | 42,9% | 3*     | 100,0% | 6     | 60,0%  | 4    | 57,1%  | 21*          | 91,3% |              |
| <b>GGT TX (U/L)</b>      |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Normal                   | 0      | 0,0%  | 1      | 33,3%  | 5     | 50,0%  | 3    | 42,9%  | 3            | 13,0% | 0,123        |
| Aumentado                | 0      | 0,0%  | 2      | 66,7%  | 5     | 50,0%  | 4    | 57,1%  | 20           | 87,0% |              |
| <b>FA início (U/L)</b>   |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                    | 1      | 14,3% | 0      | 0,0%   | 1     | 10,0%  | 0    | 0,0%   | 0            | 0,0%  | 0,107        |
| Normal                   | 6      | 85,7% | 3      | 100,0% | 5     | 50,0%  | 7    | 100,0% | 14           | 60,9% |              |
| Aumentado                | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 4     | 40,0%  | 0    | 0,0%   | 9            | 39,1% |              |
| <b>FA TX (U/L)</b>       |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                    | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 10,0%  | 1    | 14,3%  | 1            | 4,3%  | 0,820        |
| Normal                   | 0      | 0,0%  | 2      | 66,7%  | 6     | 60,0%  | 5    | 71,4%  | 12           | 52,2% |              |
| Aumentado                | 0      | 0,0%  | 1      | 33,3%  | 3     | 30,0%  | 1    | 14,3%  | 10           | 43,5% |              |
| <b>Ur início (mg/dL)</b> |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Normal                   | 2      | 28,6% | 2*     | 66,7%  | 8*    | 80,0%  | 7*   | 100,0% | 18*          | 78,3% | <b>0,033</b> |
| Aumentado                | 5*     | 71,4% | 1      | 33,3%  | 2     | 20,0%  | 0    | 0,0%   | 5            | 21,7% |              |
| <b>Ur TX (mg/dL)</b>     |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Normal                   | 0      | 0,0%  | 1      | 33,3%  | 6     | 60,0%  | 6    | 85,7%  | 16           | 69,6% | 0,399        |
| Aumentado                | 0      | 0,0%  | 2      | 66,7%  | 4     | 40,0%  | 1    | 14,3%  | 7            | 30,4% |              |
| <b>Cr início (mg/dL)</b> |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                    | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 0    | 0,0%   | 1            | 4,3%  | 0,600        |
| Normal                   | 5      | 71,4% | 3      | 100,0% | 10    | 100,0% | 7    | 100,0% | 19           | 82,6% |              |
| Aumentado                | 2      | 28,6% | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 0    | 0,0%   | 3            | 13,0% |              |
| <b>Cr TX (mg/dL)</b>     |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Normal                   | 0      | 0,0%  | 1      | 33,3%  | 9     | 90,0%  | 6    | 85,7%  | 14           | 60,9% | 0,136        |
| Aumentado                | 0      | 0,0%  | 2      | 66,7%  | 1     | 10,0%  | 1    | 14,3%  | 9            | 39,1% |              |
| <b>ALB início (g/dL)</b> |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                    | 0      | 0,0%  | 3      | 100,0% | 2     | 20,0%  | 4    | 57,1%  | 12           | 52,1% | 0,080        |
| Normal                   | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 8     | 80,0%  | 3    | 42,9%  | 11           | 47,9% |              |
| <b>ALB TX (g/dL)</b>     |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                    | 0      | 0,0%  | 1      | 33,3%  | 4     | 40,0%  | 5    | 71,4%  | 15           | 65,2% | 0,378        |

|                                       | Grupos |       |        |        |       |        |      |        |              |       | p-Valor      |
|---------------------------------------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|------|--------|--------------|-------|--------------|
|                                       | Doador |       | Álcool |        | HBV   |        | EHNA |        | Criptogênica |       |              |
|                                       | G-I    |       | G-II   |        | G-III |        | G-IV |        | G-V          |       |              |
| Normal                                | 0      | 0,0%  | 2      | 66,7%  | 6     | 60,0%  | 2    | 28,6%  | 8            | 34,8% |              |
| <b>GLOB (g/dL)</b>                    |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Normal                                | 0      | 0,0%  | 2      | 100,0% | 8     | 88,9%  | 6    | 100,0% | 14           | 82,4% | 0,651        |
| Aumentado                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 11,1%  | 0    | 0,0%   | 3            | 17,6% |              |
| <b>PT (g/dL)</b>                      |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                                 | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 0    | 0,0%   | 4            | 23,5% | 0,479        |
| Normal                                | 0      | 0,0%  | 2      | 100,0% | 8     | 88,9%  | 6    | 100,0% | 12           | 70,6% |              |
| Aumentado                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 11,1%  | 0    | 0,0%   | 1            | 5,9%  |              |
| <b>Na<sup>+</sup> início (mmol/L)</b> |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                                 | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 10,0%  | 3*   | 42,9%  | 6            | 26,1% | <b>0,009</b> |
| Normal                                | 4      | 57,1% | 3*     | 100,0% | 9*    | 90,0%  | 3    | 42,9%  | 17*          | 73,9% |              |
| Aumentado                             | 3*     | 42,9% | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 1    | 14,3%  | 0            | 0,0%  |              |
| <b>Na<sup>+</sup> TX (mmol/L)</b>     |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                                 | 0      | 0,0%  | 2*     | 66,7%  | 4     | 40,0%  | 4*   | 57,1%  | 8            | 34,8% | <b>0,010</b> |
| Normal                                | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 6*    | 60,0%  | 3    | 42,9%  | 15*          | 65,2% |              |
| Aumentado                             | 0      | 0,0%  | 1      | 33,3%  | 0     | 0,0%   | 0    | 0,0%   | 0            | 0,0%  |              |
| <b>K<sup>+</sup> início (mmol/L)</b>  |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                                 | 4*     | 57,1% | 0      | 0,0%   | 2     | 20,0%  | 0    | 0,0%   | 1            | 4,3%  | <b>0,025</b> |
| Normal                                | 2      | 28,6% | 3*     | 100,0% | 7*    | 70,0%  | 7*   | 100,0% | 21*          | 91,3% |              |
| Aumentado                             | 1      | 14,3% | 0      | 0,0%   | 1     | 10,0%  | 0    | 0,0%   | 1            | 4,3%  |              |
| <b>K<sup>+</sup> TX (mmol/L)</b>      |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                                 | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 10,0%  | 0    | 0,0%   | 1            | 4,3%  | 0,685        |
| Normal                                | 0      | 0,0%  | 3      | 100,0% | 9     | 90,0%  | 7    | 100,0% | 19           | 82,6% |              |
| Aumentado                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 0    | 0,0%   | 3            | 13,0% |              |
| <b>CAI (mg/dL)</b>                    |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                                 | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 2    | 28,6%  | 10           | 43,5% | 0,179        |
| Normal                                | 0      | 0,0%  | 3      | 100,0% | 9     | 90,0%  | 4    | 57,1%  | 12           | 52,2% |              |
| Aumentado                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 10,0%  | 1    | 14,3%  | 1            | 4,3%  |              |
| <b>CAI (mmol/L)</b>                   |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                                 | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 1    | 25,0%  | 3            | 21,4% | 0,514        |
| Normal                                | 0      | 0,0%  | 3      | 100,0% | 8     | 88,9%  | 3    | 75,0%  | 11           | 78,6% |              |
| Aumentado                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 11,1%  | 0    | 0,0%   | 0            | 0,0%  |              |
| <b>Mg<sup>+</sup> (mg/dL)</b>         |        |       |        |        |       |        |      |        |              |       |              |
| Baixo                                 | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 1    | 14,3%  | 3            | 13,0% | 0,336        |
| Normal                                | 0      | 0,0%  | 3      | 100,0% | 10    | 100,0% | 4    | 57,1%  | 18           | 78,3% |              |
| Aumentado                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 2    | 28,6%  | 2            | 8,7%  |              |

|                                   | Grupos |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
|-----------------------------------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|------|-------|--------------|--------|------------------|
|                                   | Doador |       | Álcool |        | HBV   |        | EHNA |       | Criptogênica |        | p-Valor          |
|                                   | G-I    |       | G-II   |        | G-III |        | G-IV |       | G-V          |        |                  |
| <b>AFP (ng/mL)</b>                |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Normal                            | 0      | 0,0%  | 3      | 100,0% | 6     | 66,7%  | 6    | 85,7% | 19           | 90,5%  | 0,334            |
| Aumentado                         | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 3     | 33,3%  | 1    | 14,3% | 2            | 9,5%   |                  |
| <b>CT (mg/dL)</b>                 |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 4*   | 57,1% | 2            | 9,5%   | <b>0,026</b>     |
| Normal                            | 0      | 0,0%  | 2*     | 66,7%  | 10*   | 100,0% | 3    | 42,9% | 17*          | 81,0%  |                  |
| Aumentado                         | 0      | 0,0%  | 1      | 33,3%  | 0     | 0,0%   | 0    | 0,0%  | 2            | 9,5%   |                  |
| <b>LDL-c (mg/dL)</b>              |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 14,3%  | 1    | 33,3% | 1            | 6,3%   | 0,086            |
| Normal                            | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 6     | 85,7%  | 2    | 66,7% | 10           | 62,5%  |                  |
| Aumentado                         | 0      | 0,0%  | 2      | 100,0% | 0     | 0,0%   | 0    | 0,0%  | 5            | 31,3%  |                  |
| <b>VLDL-c (mg/dL)</b>             |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 3     | 33,3%  | 2    | 33,3% | 12           | 57,1%  | 0,399            |
| Normal                            | 0      | 0,0%  | 2      | 100,0% | 6     | 66,7%  | 3    | 50,0% | 8            | 38,1%  |                  |
| Aumentado                         | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 1    | 16,7% | 1            | 4,8%   |                  |
| <b>HDL-c (mg/dL)</b>              |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 0      | 0,0%  | 1      | 50,0%  | 5     | 71,4%  | 2    | 66,7% | 11           | 73,3%  | 0,922            |
| Normal                            | 0      | 0,0%  | 1      | 50,0%  | 2     | 28,6%  | 1    | 33,3% | 4            | 26,7%  |                  |
| <b>TG (mg/dL)</b>                 |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 4     | 44,4%  | 1    | 16,7% | 5            | 23,8%  | 0,342            |
| Normal                            | 0      | 0,0%  | 2      | 100,0% | 5     | 55,6%  | 3    | 50,0% | 14           | 66,7%  |                  |
| Aumentado                         | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 0     | 0,0%   | 2    | 33,3% | 2            | 9,5%   |                  |
| <b>FIB (mg/dL)</b>                |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 0      | 0,0%  | 3      | 100,0% | 4     | 57,1%  | 3    | 60,0% | 11           | 61,1%  | 0,589            |
| Normal                            | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 3     | 42,9%  | 2    | 40,0% | 7            | 38,9%  |                  |
| <b>HT (%)</b>                     |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 2      | 28,6% | 3*     | 100,0% | 6*    | 60,0%  | 6*   | 85,7% | 22*          | 100,0% | <b>&lt;0,001</b> |
| Normal                            | 5*     | 71,4% | 0      | 0,0%   | 4     | 40,0%  | 1    | 14,3% | 0            | 0,0%   |                  |
| <b>Hemoglobina (g/dL)</b>         |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 2      | 28,6% | 3*     | 100,0% | 5*    | 50,0%  | 6*   | 85,7% | 21*          | 95,5%  | <b>0,001</b>     |
| Normal                            | 5*     | 71,4% | 0      | 0,0%   | 5     | 50,0%  | 1    | 14,3% | 1            | 4,5%   |                  |
| <b>Plaquetas (mm<sup>3</sup>)</b> |        |       |        |        |       |        |      |       |              |        |                  |
| Baixo                             | 3      | 42,9% | 3      | 100,0% | 6     | 60,0%  | 5    | 71,4% | 14           | 63,6%  | 0,713            |
| Normal                            | 4      | 57,1% | 0      | 0,0%   | 3     | 30,0%  | 2    | 28,6% | 6            | 27,3%  |                  |
| Aumentado                         | 0      | 0,0%  | 0      | 0,0%   | 1     | 10,0%  | 0    | 0,0%  | 2            | 9,1%   |                  |

Dados apresentados como frequência absoluta e percentual, \*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson (n, %).

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

Início = início do acompanhamento do paciente no hospital; Tx= pré transplante hepático; Glic = dosagem de glicemia de jejum; BT = bilirrubina total; BD =, bilirrubina direta; BI = bilirrubina indireta; ALT = alanina aminotransferase; AST = aspartato aminotransferase; GGT = gama glutamiltransferase; FA = fosfatase alcalina; Ur = Ureia; Cr = creatinina; ALB = albumina; GLOB = globulina; PT = proteína totais;

Na<sup>+</sup> = sódio; K<sup>+</sup>= potássio; CA = cálcio total; CAI = cálcio iônico; Mg<sup>+</sup> = magnésio; ALP = alfa-fetoproteína; CT = colesterol total; LDL-c = colesterol, lipoproteína de densidade baixa; VLDL-c = colesterol, lipoproteína de mais baixa densidade; HDL-c = colesterol, lipoproteína de alta densidade; TG = triglicerídeo; FIB = fibrinogênio; HT = hematócrito.

Na avaliação laboratorial referente à média de IMC, perfil lipídico (CT, TG, LDL-c e VLDL-c, VLDL-c e HDL-c), globulina, proteína total, alfa-fetoproteína, cálcio iônico e magnésio, não apresentaram diferenças significantes entre os grupos (TABELA 16).

Entre os valores do cálcio total, foi observado uma diferença entre os grupos G-IV (8,94±1,63) e grupo G-V (8,13±1,14) versus os grupos G-II (9,22±1,00) e G-III (9,50±1,16). Estes dados demonstraram diferença significativa (p=0,026) entre as médias dos grupos de cirrose por EHNA e cirrose criptogênica ao comparar com os grupos de cirrose por álcool e cirrose por HBV.

**Tabela 16** - Avaliação dos parâmetros bioquímicos e da variação de massa corpórea entre os grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.

| Dados                    | Grupos        |                |              |                         |                         | p-Valor      |
|--------------------------|---------------|----------------|--------------|-------------------------|-------------------------|--------------|
|                          | Doador<br>G-I | Álcool<br>G-II | HBV<br>G-III | EHNA<br>G-IV            | Criptogênica<br>G-V     |              |
| IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) | 24,01±3,37    | 27,90±5,60     | 26,27±3,18   | 25,47±2,48              | 24,71±4,53              | 0,545        |
| CT (mg/dL)               | -             | 225,50±55,86   | 139,88±13,08 | 113,67±49,47            | 161,38±77,18            | 0,16         |
| TG (mg/dL)               | -             | 109,50±28,99   | 87,22±41,54  | 130,67±112,94           | 91,62±61,79             | 0,602        |
| LDL-c (mg/dL)            | -             | 123,00±19,80   | 77,00±16,56  | 65,60±16,29             | 128,58±83,01            | 0,25         |
| VLDL-c (mg/dL)           | -             | 21,90±5,80     | 17,44±8,31   | 26,10±22,60             | 18,36±12,35             | 0,608        |
| HDL-c (mg/dL)            | -             | 37,00±8,49     | 31,86±15,89  | 36,00±14,93             | 26,67±19,23             | 0,74         |
| GLOB (g/dL)              | -             | 3,60±0,14      | 3,76±1,02    | 3,32±0,89               | 3,91±2,75               | 0,947        |
| PT (g/dL)                | -             | 5,65±0,07      | 6,90±0,97    | 6,25±0,58               | 6,25±1,23               | 0,338        |
| ALP (ng/mL)              | -             | 4,47±2,84      | 9,08±9,16    | 6,69±7,75               | 7,12±8,33               | 0,843        |
| CA (mg/dL)               | -             | 9,33±1,00      | 9,50±1,16    | 8,94±1,63 <sup>bc</sup> | 8,13±1,14 <sup>bc</sup> | <b>0,026</b> |
| CAI (mmol/L)             | -             | 1,16±0,10      | 1,25±0,22    | 1,23±0,12               | 1,14±0,07               | 0,281        |
| Mg <sup>+</sup> (mg/dL)  | -             | 2,00±0,26      | 2,12±0,30    | 2,36±0,52               | 2,09±0,49               | 0,532        |

Teste ANOVA/Bonferroni; <sup>b</sup>p<0,05 versus alcoólica; <sup>c</sup>p<0,05 versus HBV; (média ± DP).

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

IMC = índice corpúscular médio; CT = colesterol total; TG = triglicerídeo; LDL-c = colesterol, lipoproteína de densidade baixa; VLDL-c = colesterol, lipoproteína de mais baixa densidade; HDL-c = colesterol, lipoproteína de alta densidade; GLOB = globulina; PT = proteína totais; ALP = alfa-fetoproteína; CA = cálcio total; CAI= cálcio iônico; Mg<sup>+</sup> = magnésio.

Na análise das variáveis laboratoriais da glicose sérica no início do acompanhamento, os pacientes dos grupos G-IV ( $104,29 \pm 47,61$ ) e G-V ( $93,26 \pm 18,46$ ) apresentaram valores mais baixos que o grupo G-I ( $183,43 \pm 97,98$ ),  $p=0,004$ . Demonstrando, assim, que o grupo de EHNA e o grupo de cirrose criptogênica apresentam valores mais baixos de glicose quanto ao grupo doador. Não foi observado alterações nas médias da glicose sérica no pré TX entre os grupos (TABELA 17).

Quanto ao valor do sódio no início, identificou-se uma diferença nas médias dos grupos G-II ( $137,00 \pm 7,00$ ), G-III ( $137,70 \pm 8,99$ ), G-IV ( $134,57 \pm 8,85$ ) e G-V ( $134,17 \pm 5,65$ ) versus grupo G-I ( $148,14 \pm 10,46$ ), ( $p=0,003$ ). Ao comparar as médias do sódio no início do acompanhamento e no pré TX, observou uma diferença significante entre os grupos G-III ( $137,00 \pm 7,00$ ;  $135,00 \pm 14,80$ ) e G-IV ( $137,70 \pm 8,99$ ;  $133,30 \pm 4,55$ ), ( $p=0,042$ ). Não foi observado diferença significante nos valores do potássio entre os grupos.

Inicialmente, na análise dos valores séricos da ureia no início, observou-se que os indivíduos do grupo G-II ( $39,33 \pm 17,04$ ), G-III ( $35,54 \pm 20,23$ ), G-IV ( $27,00 \pm 10,10$ ) e G-V ( $34,04 \pm 16,83$ ) apresentavam valores mais baixos que o grupo G-I ( $75,00 \pm 57,48$ ), ( $p=0,008$ ). Ao analisar as variáveis dos grupos entre o início e no pré TX, verifica-se que as médias da ureia se modificaram no grupo G-V. Foi verificado que os valores eram menores no início ( $34,04 \pm 16,83$ ) em comparação com os valores no pré TX ( $52,87 \pm 42,51$ ), ( $p=0,001$ ).

Os valores da creatinina sérica não apresentaram diferença significante entre os grupos. Porém, ao comparar as médias entre o início e no pré TX, foi observado que os valores se elevaram nos grupos G-III ( $0,91 \pm 0,26$ ;  $1,04 \pm 0,27$ ), e G-IV ( $0,79 \pm 0,27$ ;  $1,10 \pm 0,40$ ), ( $p < 0,005$ ).

Foi verificado uma diferença entre os valores da albumina sérica no início entre os grupos G-III ( $3,69 \pm 0,65$ ), G-IV ( $3,16 \pm 0,71$ ) e G-V ( $3,10 \pm 0,46$ ) versus o grupo G-II ( $2,87 \pm 0,58$ ), ( $p=0,036$ ). Demonstrando, que o grupo de cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica apresentavam níveis mais elevado de albumina sérica em comparação com a cirrose por álcool. Nas análises de comparação entre o início do acompanhamento e no pré TX as médias entre os grupos G-III ( $3,69 \pm 0,65$ ) e G-V ( $3,10 \pm 0,46$ ), apresentaram diferença significante ( $p < 0,001$ ), entre as análises do pré TX G-III ( $3,28 \pm 0,82$ ) e G-V ( $2,98 \pm 0,57$ ). Não foram obtidas diferenças significantes entre os grupos nos parâmetros da bilirrubina sérica (BT, BD e BI), ALT, AST, GGT e FA.

**Tabela 17** – Avaliação dos parâmetros bioquímicos no início do acompanhamento e no pré transplante de fígado entre os grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteato-hepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.

| Dados                           | Grupos        |                          |                            |                           |                            | p-Valor      |
|---------------------------------|---------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------|
|                                 | Doador<br>G-I | Álcool<br>G-II           | HBV<br>G-III               | EHNA<br>G-IV              | Criptogênica<br>G-V        |              |
| Glic (mg/dL)                    | 183,43±97,98  | 137,00±37,64             | 126,50±62,22               | 104,29±47,61 <sup>a</sup> | 93,26±18,46 <sup>a</sup>   | <b>0,004</b> |
| Glic Tx (mg/dL)                 | -             | 128,67±2,52              | 146,70±119,12              | 163,86±98,87              | 132,70±67,00               | 0,843        |
| Na <sup>+</sup> início (mmol/L) | 148,14±10,46  | 137,00±7,00 <sup>a</sup> | 137,70±8,99 <sup>*,a</sup> | 134,57±8,85 <sup>a</sup>  | 134,17±5,65 <sup>a</sup>   | <b>0,003</b> |
| Na <sup>+</sup> TX (mmol/L)     | -             | 135,00±14,80             | 133,30±4,55 <sup>*</sup>   | 132,57±2,99               | 132,48±7,75                | 0,943        |
| K <sup>+</sup> início (mmol/L)  | 3,73±1,35     | 4,53±0,47                | 4,28±0,86                  | 4,24±0,66                 | 4,37±0,67                  | 0,464        |
| K <sup>+</sup> TX (mmol/L)      | -             | 4,47±0,21                | 3,79±0,59                  | 4,27±0,49                 | 4,52±0,89                  | 0,097        |
| Ur início (mg/dL)               | 75,00±57,48   | 39,33±17,04 <sup>a</sup> | 35,54±20,23 <sup>a</sup>   | 27,00±10,10 <sup>a</sup>  | 34,04±16,83 <sup>*,a</sup> | <b>0,008</b> |
| Ur TX (mg/dL)                   | -             | 80,33±57,36              | 41,80±20,09                | 37,00±19,95               | 52,87±42,51 <sup>*</sup>   | 0,326        |
| Cr início (mg/dL)               | 1,61±1,10     | 0,93±0,21                | 0,91±0,26 <sup>*</sup>     | 0,79±0,27 <sup>*</sup>    | 1,03±0,54                  | 0,08         |
| Cr TX (mg/dL)                   | -             | 3,30±2,59                | 1,04±0,27 <sup>*</sup>     | 1,10±0,40 <sup>*</sup>    | 1,48±1,47                  | 0,062        |
| ALB início (g/L)                | -             | 2,87±0,58                | 3,69±0,65 <sup>*,b</sup>   | 3,16±0,71 <sup>b</sup>    | 3,10±0,46 <sup>*,b</sup>   | <b>0,036</b> |
| ALB TX (g/dL)                   | -             | 3,27±0,40                | 3,28±0,82 <sup>*,b</sup>   | 3,26±0,74                 | 2,98±0,57 <sup>*,b</sup>   | 0,552        |
| BT início (mg/dL)               | 0,79±0,50     | 2,80±1,38                | 4,74±8,72                  | 4,05±3,60                 | 7,53±10,14                 | 0,379        |
| BT TX (mg/dL)                   | -             | 8,52±9,27                | 4,26±8,83                  | 4,55±6,16                 | 7,90±8,54                  | 0,592        |
| BD início (mg/dL)               | 0,48±0,58     | 1,91±1,53                | 2,28±5,07                  | 1,88±3,59                 | 4,33±5,04                  | 0,28         |
| BD TX (mg/dL)                   | -             | 4,14±4,82                | 2,45±6,07                  | 2,70±5,01                 | 4,14±4,34                  | 0,781        |
| BI início (mg/dL)               | 0,31±0,19     | 0,89±0,16                | 2,46±3,71                  | 2,78±4,45                 | 1,96±1,55                  | 0,659        |
| BI TX (mg/dL)                   | -             | 4,38±4,46                | 1,81±2,78                  | 2,13±1,69                 | 3,74±4,89                  | 0,531        |
| ALT início (U/L)                | 193,57±376,57 | 52,67±35,36              | 69,70±78,04                | 59,43±49,24               | 143,83±260,20              | 0,708        |
| ALT TX (U/L)                    | -             | 115,67±147,36            | 32,90±10,91                | 51,86±48,47               | 116,43±158,66              | 0,295        |
| AST início (U/L)                | 317,71±454,14 | 77,67±46,72              | 72,00±61,48                | 62,29±24,14               | 175,52±335,25              | 0,405        |
| AST TX (U/L)                    | -             | 111,33±126,26            | 41,70±14,81                | 69,43±62,28               | 114,00±119,29              | 0,247        |
| GGT início (U/L)                | 113,14±173,16 | 141,00±74,75             | 110,50±129,29              | 119,43±111,29             | 175,09±148,28              | 0,697        |
| GGT TX (U/L)                    | -             | 195,67±134,84            | 98,80±111,75               | 112,29±92,00              | 198,43±215,83              | 0,418        |
| FA início (U/L)                 | 102,71±38,38  | 216,67±55,08             | 297,90±325,45              | 144,00±69,22              | 384,74±342,79              | 0,121        |
| FA TX (U/L)                     | -             | 248,33±94,85             | 243,40±190,29              | 141,14±121,40             | 388,26±340,76              | 0,179        |

Teste ANOVA/Bonferroni; <sup>a</sup>p<0,05 versus doador; <sup>b</sup>p<0,05 versus alcoólica; (média ± DP).

Teste-t Pareado; \*p<0,05 e \*\* p<0,001 entre a média dos valores no início do acompanhamento versus a média dos valores no pré-transplante (pré TX).

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

Início = início do acompanhamento; Tx= pré transplante hepático; Glic = dosagem de glicemia de jejum; Na<sup>+</sup> = sódio; K<sup>+</sup>= potássio; Ur = Ureia; Cr = creatinina; ALB = albumina; BT = bilirrubina total; BD =, bilirrubina direta; BI = bilirrubina indireta; ALT = alanina aminotransferase; AST = aspartato aminotransferase; GGT = gama glutamiltransferase; FA = fosfatase alcalina.

A Tabela 18 sintetiza dados como os processos inflamatórios e infecciosos (proteína C reativa- PCR); hemostasia, hemograma completo (série vermelha, série branca e plaquetas) e a gasometria arterial. Esses parâmetros foram analisados de acordo com os resultados coletados nos exames realizados no pré transplante de cada paciente.

Não houve diferença significativa entre os grupos nas análises dos valores de PCR, fibrinogênio, TAP, TTPA entre os grupos. Ao analisar os valores das médias da hemoglobina, observou-se diferença significativa entre o grupo G-III (14,03±2,01) versus grupo G-II (10,67±2,27) e o grupo G-V (10,26±2,54) versus G-III (14,03±2,01), (p=0,001). Quanto à análise dos valores das médias do hematócrito, também foi observado diferença significativa entre o grupo G-III (40,65±6,38) versus grupo G-II (30,60±5,24) e o grupo G-V (30,20±7,53), (p=0,001). Demonstrando que, o grupo de cirrose por HBV obteve valores mais elevados de hemoglobina e hematócrito que o grupo de cirrose por álcool e o grupo da cirrose criptogênica. Os valores de VCM, HCM, CHCM, RDW, leucograma e os parâmetros da gasometria, não evidenciaram diferenças entre as médias dos grupos.

**Tabela 18** – Avaliação dos parâmetros da proteína C reativa, hematológico e gasometria arterial entre os grupos: doador, cirrose por álcool, cirrose por hepatite B, cirrose por esteatohepatite não alcoólica e cirrose criptogênica, Fortaleza-Ce, 2019.

| Dados                          | Grupos        |                 |                         |                 |                         | p-Valor      |
|--------------------------------|---------------|-----------------|-------------------------|-----------------|-------------------------|--------------|
|                                | Doador<br>G-I | Álcool<br>G-II  | HBV<br>G-III            | EHNA<br>G-IV    | Criptogênica<br>G-V     |              |
| PCR (mg/dL)                    | -             | 1,51±1,00       | 3,04±3,70               | 0,81±0,47       | 3,81±2,88               | 0,31         |
| FIB (mg/dL)                    | -             | 104,67±50,66    | 201,00±109,43           | 186,20±90,20    | 155,40±63,82            | 0,296        |
| TAP (segundos)                 | -             | 22,07±10,54     | 16,55±4,69              | 17,67±7,90      | 28,17±26,68             | 0,417        |
| TAP (%)                        | 17,30±8,06    | 45,33±24,44     | 61,04±30,41             | 59,31±25,86     | 42,24±24,86             | 0,123        |
| TAP INR                        | 1,26±0,38     | 1,96±0,95       | 1,40±0,41               | 1,49±0,36       | 1,84±1,14               | 0,449        |
| TTP (segundos)                 | -             | 65,90±19,84     | 41,84±13,67             | 42,60±17,32     | 69,17±59,56             | 0,338        |
| TTPA pc                        | -             | 2,31±0,64       | 1,53±0,51               | 1,52±0,60       | 1,69±1,31               | 0,698        |
| HM (milhões/ mm <sup>3</sup> ) | -             | 3,12±0,55       | 4,24±0,82               | 3,92±0,58       | 3,25±0,70               | 0,915        |
| HB (g/dL)                      | -             | 10,67±2,27      | 14,03±2,01 <sup>b</sup> | 12,07±0,85      | 10,26±2,54 <sup>c</sup> | <b>0,001</b> |
| HT(%)                          | -             | 30,60±5,24      | 40,65±6,38 <sup>b</sup> | 36,02±2,51      | 30,20±7,53 <sup>c</sup> | <b>0,001</b> |
| VCM (fl)                       | -             | 97,33±1,99      | 93,97±7,48              | 84,49±8,87      | 93,11±11,13             | 0,185        |
| HCM (pg)                       | -             | 34,07±1,54      | 32,14±2,64              | 30,17±2,14      | 31,69±4,03              | 0,437        |
| CHCM (g/dL)                    | -             | 31,37±4,87      | 34,52±1,08              | 32,82±5,57      | 33,06±4,68              | 0,668        |
| RDW (%)                        | -             | 14,23±1,07      | 13,89±2,22              | 14,72±1,65      | 15,89±3,32              | 0,374        |
| Leucócitos (mm <sup>3</sup> )  | -             | 4830,00±1116,92 | 6198,00±4146,17         | 5751,86±2054,99 | 7770,70±3668,41         | 0,32         |
| Neutrófilos (ul)               | -             | 3350,00±1214,45 | 4164,50±3360,90         | 3546,00±1218,56 | 5269,77±4129,34         | 0,643        |
| Mieloblastos (%)               | -             | 0,00±0,00       | 0,00±0,00               | 0,00±0,00       | 0,00±0,00               | 1            |
| Pró-mielócitos (%)             | -             | 0,00±0,00       | 0,00±0,00               | 0,00±0,00       | 0,00±0,00               | 1            |
| Mielócitos (%)                 | -             | 0,00±0,00       | 0,00±0,00               | 0,00±0,00       | 0,00±0,00               | 1            |
| Metamielócitos (%)             | -             | 0,00±0,00       | 0,00±0,00               | 0,00±0,00       | 0,00±0,00               | 1            |
| Bastões (%)                    | -             | 0,00±0,00       | 16,00±27,57             | 15,00±25,10     | 151,74±396,16           | 0,539        |



| Dados                        | Grupos        |                   |                   |                    |                     | p-Valor |
|------------------------------|---------------|-------------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------|
|                              | Doador<br>G-I | Álcool<br>G-II    | HBV<br>G-III      | EHNA<br>G-IV       | Criptogênica<br>G-V |         |
| Segmentados (%)              | -             | 3350,00±1214,45   | 4072,22±3535,46   | 3543,60±1219,67    | 5681,55±3735,46     | 0,386   |
| Linfócitos (%)               | -             | 833,33±336,20     | 1116,67±666,30    | 1490,00±894,91     | 1189,50±696,62      | 0,657   |
| Monócitos (%)                | -             | 403,33±188,77     | 485,56±398,12     | 587,50±246,63      | 400,14±237,72       | 0,616   |
| Eosinófilos (%)              | -             | 246,67±30,55      | 180,00±165,91     | 107,50±49,24       | 246,82±549,18       | 0,934   |
| Basófilo (%)                 | -             | 0,00±0,00         | 0,00±0,00         | 0,00±0,00          | 0,00±0,00           | 1       |
| Plasmócito (%)               | -             | 0,00±0,00         | 0,00±0,00         | 0,00±0,00          | 0,00±0,00           | 1       |
| Prolinfócito (%)             | -             | 0,00±0,00         | 0,00±0,00         | 0,00±0,00          | 0,00±0,00           | 1       |
| Blastos (%)                  | -             | 0,00±0,00         | 0,00±0,00         | 0,00±0,00          | 0,00±0,00           | 1       |
| Plaquetas ( $mm^3$ )         | -             | 65166,67±16793,25 | 99100,00±73156,33 | 131177,14±45693,98 | 157439,13±140651,21 | 0,393   |
| pH GA                        | -             | 7,42±0,10         | 7,36±0,10         | 7,31±0,15          | 7,36±0,68           | 0,138   |
| pCO <sub>2</sub> GA (mmHg)   | -             | 34,73±15,07       | 35,54±7,98        | 40,98±13,01        | 35,13±6,34          | 0,555   |
| PO <sub>2</sub> GA (mmHg)    | -             | 97,13±18,40       | 111,00±42,01      | 115,20±31,74       | 113,23±46,06        | 0,936   |
| O <sub>2</sub> St GA (%)     | -             | 97,17±1,27        | 96,13±5,04        | 98,66±1,26         | 95,39±7,21          | 0,734   |
| HCO <sub>3</sub> GA (mmol/L) | -             | 22,70±5,16        | 27,64±25,59       | 19,42±3,38         | 19,85±3,60          | 0,45    |
| LAC GA (mmol/L)              | -             | 1,51±0,13         | 2,94±2,22         | 3,06±2,10          | 1,88±0,95           | 0,144   |
| K <sup>+</sup> GA (mmol/L)   | -             | 4,33±0,35         | 4,28±0,94         | 4,44±0,82          | 4,14±0,72           | 0,862   |
| Na <sup>+</sup> GA (mmol/L)  | -             | 135,67±14,36      | 133,77±8,32       | 133,22±3,58        | 132,11±7,70         | 0,872   |
| Cl <sup>-</sup> GA (mmol/L)  | -             | 106,10±0,36       | 106,94±6,59       | 106,40±4,10        | 107,04±4,95         | 0,987   |

Teste ANOVA/Bonferroni; <sup>b</sup>p<0,05 versus alcoólica; <sup>c</sup>p<0,05 versus HBV (média ± DP).

Grupos: Doador, G-I; cirrose por álcool, G-II; cirrose por HBV (cirrose pelo vírus da hepatite B), G-III; cirrose por EHNA (cirrose por esteato-hepatite não alcoólica), G-IV; cirrose Criptogênica, G-V.

PCR = proteína C reativa; FIB = fibrinogênio; TAP = tempo de atividade da protrombina; TAP INR = razão normalizada internacional do tempo de atividade da protrombina; TTP = tempo de tromboplastina parcial; HM= hemácias; HB = hemoglobina; HT = hematócrito; VCM = volume corpuscular médio; HCM = Hemoglobina Corpuscular média; CHCM = concentração da hemoglobina corpuscular média; RDW = amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos; GA= gasometria arterial; pH = potência de hidrogênio; pCO<sub>2</sub> = pressão parcial de gás carbônico; pO<sub>2</sub> = pressão parcial de oxigênio; O<sub>2</sub> St = oxigênio saturado; HCO<sub>3</sub> = bicarbonato; Na<sup>+</sup> GA= sódio gasometria arterial; K<sup>+</sup> GA= potássio gasometria arterial; Cl<sup>-</sup> GA = cloro gasometria arterial.

## 5. DISCUSSÃO

A cirrose criptogênica tem sido reportada como uma doença de etiologia não identificável advinda de algumas doenças crônicas ocultas, tais como a EHNA, hepatite auto-imune, hepatite viral (B ou C) e o alcoolismo (FARIA, 2014; CALDWELL, 2009; HEIDELBAUGH *et al.*, 2006). No entanto, uma proporção variável dessas doenças, continua a ser rotulada como “criptogênica” em todo o mundo, mesmo com a investigação extensiva dos dados clínicos, não estabelecendo uma etiologia subjacente da doença hepática, permanecendo-se como desconhecida (HERINGLAKE *et al.*, 2009; MAHESHWARI *et al.*, 2006; DUCLOS-VALLEÅLE *et al.*, 2005; SUTEDJA *et al.*, 2004).

Na presente casuística, ao avaliar o perfil epidemiológico dos grupos de estudo, observou-se que a maioria dos indivíduos apresentaram uma faixa etária em torno de 52 anos ( $51,44 \pm 15,85$ ) e não houve diferença da idade entre os grupos. Com relação a prevalência do gênero, houve predominância do sexo feminino (54%) em relação ao sexo masculino (46%). A maioria dos pacientes dos grupos doador (5 casos), cirrose por EHNA (4 casos) e cirrose criptogênica (16 casos) eram do sexo feminino. Entretanto o grupo de cirrose por álcool (3 casos) e cirrose por HBV (8 casos) eram do sexo masculino.

Na presente casuística, o perfil dos pacientes está de acordo com a literatura, em que os pacientes com cirrose apresentam uma média de idade entre 50 a 56 anos (XIAO *et al.*, 2018; ZHOU *et al.*, 2018; YOUNOSSI *et al.*, 2018a). Porém, Leite e colaboradores (2012), observaram que os pacientes com CC apresentavam uma idade ( $52 \pm 15,8$ ) mais avançada que os pacientes com EHNA ( $46,4 \pm 11,4$ ). Outros trabalhos, também relatam uma idade mais avançada nos pacientes com CC (THULUVATH *et al.*, 2019; YOUNOSSI *et al.*, 2018; MOHAMMED, 2015).

Em relação ao gênero mais prevalente em CC, há discordância na literatura. Alguns autores (LIEW *et al.*, 2019; TELLEZ-AVILA *et al.*, 2008; SAKUGAWA *et al.*, 2003; ONG *et al.*, 2001) observaram maior prevalência do sexo feminino, enquanto outros (UNGER *et al.*, 2017, TARDU *et al.*, 2015) observaram maior prevalência do sexo masculino.

Unger e colaboradores (2017) demonstraram uma média de  $51,75 (\pm 2,91)$  anos em 12 pacientes com cirrose criptogênica com transplante ortotópico e com a prevalência do sexo masculino (75%). Os pacientes com esteato-hepatite não alcoólica (15 pacientes) com transplante ortotópico obtiveram uma média de  $59,07 \pm 2,16$  anos e uma prevalência do sexo masculino (80%). Quanto à distribuição do gênero de EHNA existem relatos na literatura da prevalência do gênero masculino (SADLER 2018; YOUNOSSI 2018). Contudo, alguns

autores relatam a prevalência nas mulheres idosas (THULUVATH, 2019; HASHIMOTO *et al.*, 2011).

Em 2018, Jun e colaboradores ao comparar a sobrevida dos pacientes com cirrose criptogênica com o hepatocarcinoma celular (HCC) na hepatite B, encontraram uma prevalência do sexo masculino nos pacientes com HBV e do sexo feminino na CC. A prevalência do sexo masculino, também foi verificada em outra publicação em pacientes cirróticos com descompensação aguda na hepatite B (WANG *et al.* 2018).

Thuluvath *et al.* (2018) ao comparar os resultados da cirrose criptogênica entre EHNA, alcoólica e cirrose auto-imune, observaram que o grupo com cirrose alcoólica apresentava um menor número de mulheres que o grupo de CC e EHNA. Estes dados estão de acordo com o trabalho de Yamamoto *et al.* (2018), que ao estudar as diferenças nos antecedentes genéticos de pacientes com doença hepática alcoólica e doença hepática gordurosa não alcoólica, relataram uma prevalência do sexo masculino em 86% dos 118 pacientes com cirrose hepática alcoólica e 55% dos 200 pacientes com EHNA.

Pode-se inferir destes resultados que o grupo de cirrose criptogênica apresentou relevância no sexo feminino em comparação ao grupo de cirrose por álcool e cirrose por HBV e a mesma prevalência de idade dos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV e cirrose por EHNA.

Quanto aos dados relacionados às comorbidades para o estudo, constatou-se que a maior parte dos pacientes não apresentavam diagnóstico para DM (76%) e HAS (82%) antes do transplante. Dos 50 pacientes, 13 (26%) pacientes apresentaram a DM e 9 (18%) com HAS entre os grupos do estudo. Pode-se destacar o grupo de cirrose por hepatite, o qual, foi encontrado um total de 2 casos isolados (DM ou HAS) e 3 casos com ambas comorbidade e o grupo de cirrose por EHNA, 4 casos com ambas comorbidade. Já, o grupo de cirrose criptogênica, verificou-se 2 casos isolados (DM ou HAS) e 1 caso com ambas comorbidade. Pode-se observar que o grupo de cirrose por hepatite e por EHNA apresentaram maior número de comorbidades que o grupo de estudo da cirrose criptogênica, mesmo com o número menor de casos em relação ao grupo da cirrose criptogênica. É digno de menção o fato que a DM de forma isolada ou associada a HAS, verificadas por alguns autores, podem estar em maior número nos diagnósticos de cirrose na EHNA, HBV e na cirrose criptogênica (THULUVATH, 2019; YAO-CHUN HSU, 2018; UNGE *et al.*, 2017).

Há hipótese do efeito prejudicial do diabetes na cirrose e tem sido associada à resistência à insulina e a esteatose hepática (MACHADO *et al.*, 2011; EL-SERAG *et al.*, 2004). Mas, o mecanismo ainda é obscuro podendo envolver principalmente os casos com

esteato-hepatites (MCPHERSON *et al.*, 2015; HUANG e HOLLINGER, 2014). Também é evidenciada a correlação do DM com a idade avançada e sexo masculino, vários estudos reforçam essa correlação (YAO-CHUN *et al.*, 2018; PAPTAEODORIDIS *et al.*, 2015).

A fim de comparar a gravidade da doença hepática no grupo de estudo, foi realizado uma avaliação dos escores de Child-Pugh e MELD presente nos prontuários. No escore de Child-Pugh, 50% do total da amostra apresentavam uma gravidade moderada e 30% com gravidade avançada da doença hepática. Quando se referiu à pontuação do escore de MELD, 66% dos pacientes apresentaram um valor de 10 a 19 pontos e 20% dos pacientes apresentaram de 20 a 29 pontos. Esses valores indicam que 86% dos pacientes encontravam-se com uma probabilidade de mortalidade de 27 a 76% sem o transplante (RORIZ *et al.*, 2014).

Ao comparar a relação dos critério de Child-Pugh e MELD em cada grupo no pré transplante, observou-se que os grupos de cirrose por álcool e cirrose por HBV apresentavam uma gravidade moderada com uma taxa de 27% de mortalidade, sendo corroborados com os dados presentes na literatura (XIÃO *et al.*, 2018; CHENG *et al.*, 2016; VANLEMMENS *et al.*, 2009). O grupo de cirrose por EHNA apresentou um número gravidade moderada (43%), com uma taxa de 83% de mortalidade. Entretanto, o grupo de cirrose criptogênica apresentou uma gravidade hepática moderada em 48% dos casos e uma gravidade avançada em 52% dos casos. Quanto a taxa de mortalidade os pacientes com cirrose criptogênica apresentaram uma taxa de mortalidade entre 27 a 83 % de mortalidade. Estes dados demonstram que o grupo de cirrose criptogênica apresentou casos com maior gravidade no escore de Child-Pugh.

Em um estudo realizado por Thuluvath *et al.* (2019) foi descrito que o escore de MELD dos pacientes com EHNA tende ser mais baixos que os pacientes com cirrose criptogênica. Já, o estudo realizado por Weinmann e colaboradores (2015), ao observar a sobrevida em 45 pacientes com EHNA associado ao carcinoma hepatocelular (HCC), demonstraram uma prevalência menor da gravidade da doença hepática (46%) e uma sobrevida maior (27%). Este achado está de acordo com os dados de Sadler *et al.* (2018) e Reddy *et al.* (2012) que também relatam uma menor gravidade da doença hepática nos pacientes com EHNA.

Uma possível explicação para esse achado seria que a doença hepática é mais agressiva nos pacientes com cirrose criptogênica, com uma intensidade maior de formação de fibrose e uma ocorrência de eventos clínicos desfavoráveis no acompanhamento a longo prazo e a menor sobrevida dos pacientes com cirrose criptogênica e cirrose por EHNA podem estar relacionados a um atraso na detecção da doença, devido à dificuldade no seu diagnóstico,

diferentes estratégias de tratamento e/ou terapias e a existência de comorbidades (YOUNOSSI, 2018; CHALASANI *et al.*, 2012; VERNON *et al.*, 2011). Assim, com base nessas observações, acredita-se que a maioria dos pacientes atualmente listados como cirrose criptogênica apresentam uma gravidade hepática elevada.

Utilizando os critérios de avaliação dos escores de Ishak, Brunt e NAS nas leituras dos TMAs, pôde-se verificar que todos os pacientes apresentaram estágio 4 (cirrose) de fibrose. A necrose lítica avaliada no escore de Ishak esteve presente nos grupos de cirrose por HBV, cirrose por EHNA e na cirrose criptogênica. A inflamação portal e portal/septal no escore de NAS, evidenciou-se no grupo de cirrose por EHNA. Já, a inflamação lobular estava evidente na maioria dos casos dos grupos de cirrose criptogênica tanto no escore Brunt como no de NAS. A presença de siderose de grau III teve uma relevância no grupo de cirrose por álcool.

Outro aspecto analisado foi que a esteatose estava menos evidente nos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA. Já, o grupo de cirrose criptogênica, a esteatose estava evidenciada na maioria dos casos com uma presença de esteatose microvesicular, em concordância em ambos os escores de Brunt e NAS. O balonismo estava presente nos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA nos escores de Brunt e NAS, porém notou-se uma evidência maior no grupo de cirrose criptogênica. Foi observada baixa frequência de megamitocôndria, macrófagos pigmentados, corpos acidófilos e glicogenação em todos os grupos no escore de NAS.

Ao comparar os resultados com o estudo de Zarrinpar e colaboradores (2019) ao observar a relação do carcinoma hepatocelular (HCC) em amostras de explantes hepáticos o grupo de EHNA apresentou uma presença maior de esteatose, esteato-hepatite, balonismo, Corpos Mallory e fibrose em comparação ao grupo de doença alcoólica. A hemossiderose, embora não estatisticamente significativa, foi mais evidente no grupo de doença alcoólica.

Já o nosso estudo revelou que o grupo de cirrose por álcool e o grupo de cirrose por EHNA apresentam semelhanças histológicas no estágio avançado da doença. Em ambos os grupos foram evidenciados uma leve degeneração gordurosa, presença de balonismo com processo inflamatório, porém, verificou-se evidência de inflamação portal no grupo de cirrose por álcool ao comparar com o grupo de cirrose por EHNA.

O balonismo celular na EHNA é um dos principais achados histológicos usados para identificar a presença de esteato-hepatite significativa e potencialmente progressiva e pode ser considerado um marco definidor da progressão da DHGNA (BEDOSSA *et al.*, 2012; JULURI *et al.*, 2011; BRUNT *et al.*, 2011a; CALDWELL *et al.*, 2010b). O termo esteato-hepatite não alcoólica, relatada por Ludwig *et al.* (1980), demonstrou a existência de uma condição

clínico-patológica, semelhante histologicamente, com a doença gerada pelo álcool nos pacientes sem consumo etílico que estão de acordo com outros trabalhos (JOSHI-BARVE *et al.*, 2015; TOSHIKUNI *et al.*, 2014; SAKHUJA, 2014).

Em suma, a descrição histopatológica de EHNA também pode incluir, a esteatose, infiltrado inflamatório neutrofílico de predominância lobular, balonização de hepatócitos, corpúsculos de Mallory e fibrose perissinusoidal (ZHONG e LEMASTERS, 2018; YOUNOSSI *et al.*, 2018; TONG *et al.*, 2014; BRUNT, 2005).

Quanto à avaliação hepatológica dos casos com cirrose por HBV através dos escores, apresentaram uma relação com os dados encontrado no grupo de cirrose por EHNA e cirrose por álcool, porém, a necrose lítica estava evidenciada em 50% dos casos do grupo de cirrose por HBV.

Esta assertiva é reforçada por achados do estudo de Sun *et al.* (2017) que ao avaliar a progressão da doença em amostras de biópsias após o tratamento dos pacientes com hepatite B, utilizando o escore de Ishak, relatou uma regressão do estágio em 45% dos pacientes e nenhum deles apresentaram lesões progressivas pós-tratamento. A persistência da atividade inflamatória em pacientes com hepatites pode ser secundária a sequelas imunológicas intra-hepáticas, apesar da ausência de replicação viral (PUTRA *et al.*, 2018).

Os critérios histológicos encontrados no grupo de cirrose por HBV, como a leve esteatose e a inflamação portal relatado pelo escore de Brunt, estão em concordância com achados na literatura (SUTHERLAND *et al.*, 2019; FUNG *et al.*, 2013; LESMANA *et al.*, 2012). Alguns estudos relatam que a esteatose pode estar associada a fatores metabólicos, mas não associados a fatores virais, como a carga viral do HBV (CLARKE *et al.*, 2019; SHEN CAI *et al.*, 2017; YILMAZ *et al.*, 2015).

Apesar da semelhança nos dados histológicos do grupo de EHNA com a cirrose por álcool e cirrose por HBV foi observado um maior número de casos do grupo de cirrose por EHNA com inflamação portal e portal/septal. O aumento da inflamação portal parece correlacionar-se com a gravidade da doença, com o desenvolvimento de fibrose e com o diagnóstico da esteato-hepatite (BEDOSSA, 2014; BRUNT e KLEINER, 2011b; KANG *et al.*, 2006). O acúmulo de gotículas de gordura nos hepatócitos em balão une vários mecanismos patogênicos na EHNA, incluindo dano oxidativo à gordura, disfunção do retículo endoplasmático e anormalidades do citoesqueleto no balonismo hepatocelular (CALDWELL *et al.*, 2017; CHALASANI *et al.*, 2008). Raramente, pode ser vista esteatose microvacuolar juntamente com a forma macrovesicular na EHNA, mas quando presente isoladamente pode corresponder a esteatose induzida por algumas medicações (BRUNT e TINIAKOS, 2010).

O diagnóstico de EHNA na histopatologia continua a ser um desafio, pois pode haver desaparecimento de gordura com a sua progressão. Isso pode estar relacionado a uma perda de fenestrações sinusoidais que retardam a deposição de gordura nos hepatócitos, privação dos hormônios lipogênicos e repopulação acinar (VAN DER POORTEN, *et al.*, 2013). O uso apenas de critérios histomorfológicos para o diagnóstico de EHNA pode ser uma forma insuficiente e mascarar os mecanismos moleculares envolvidos na transição da DHGNA para a EHNA (SUPPLI *et al.*, 2019).

O estágio avançado da EHNA corresponde a cirrose com achados da esteato-hepatite (CONTOS *et al.*, 2001), ou cirrose criptogênica, na qual os aspectos característicos da esteatose e inflamação já foram perdidos (POONAWALA *et al.*, 2000; ONG *et al.*, 2001). É importante ressaltar que, a esteatose e outras características da esteato-hepatite podem diminuir à medida que a doença progride para cirrose (PARK *et al.*, 2017; HAGSTROM *et al.*, 2017; ÂNGULO *et al.*, 2015). Portanto, pode ocorrer interpretação de mudanças específicas na atividade da doença versus o estágio da doença com o passar do tempo (AHMED, 2015; CHALASANI *et al.*, 2012).

Dentre as alterações histológicas encontradas, o grupo de cirrose criptogênica apresentou uma maior evidencia na presença da inflamação portal e portal/septal, necrose lítica, inflamação lobular, balonismo, esteatose macrovesicular e microvesicular na maioria dos casos. Estes dados demonstraram que, o grupo de cirrose criptogênica não diferenciou dos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV e cirrose por EHNA.

A gradação histológica dos grupos de cirrose criptogênica parece corroborar com o aspecto histológico DHGNA, que apresenta inflamação lobular leve, infiltrado inflamatório misto com esteatose microvesicular e macrovesicular (GOLABI *et al.*, 2018; BRUNT e TINIAKOS, 2010). Já, o aumento da inflamação portal parece correlacionar-se com a gravidade da doença, com o avanço da fibrose e com o diagnóstico de esteato-hepatite (YOUNOSSI *et al.*, 2017; BRUNT *et al.*, 2009; KANG *et al.*, 2008).

Para Younossi e colaboradores (2018b) ao analisar amostras de biópsias, demonstram que os pacientes com cirrose criptogênica apresentam uma menor atividade histológica, que o grupo de EHNA, porém a cirrose criptogênica apresenta um quadro fibrogênico mais intenso.

Estudos anteriores sobre a patologia do explante relataram uma correlação etiológica em muitos pacientes com CC, outros não identificaram qualquer causa etiológica na maioria dos pacientes baseado na histologia do explante (AYATA *et al.*, 2002; DUCLOS-VALLÉE *et al.*, 2002). Na ausência de um diagnóstico prévio nas doenças hepáticas, a histologia do fígado pode corroborar com o surgimento de casos criptogênicos (CALDWELL *et al.*, 2009).

Após um período de transição de cerca de 2000 a 2014, o termo cirrose "criptogênica" passou a ser comumente associado à "Criptogênica/ EHNA", mas o termo cirrose criptogênica não deve ser "de facto" equiparado a esse termo e os médicos não devem excluir outras possíveis etiologias, pois há implicações relevantes para diagnóstico preciso (CALDWELL e MARCHESINI, 2018; THULUVATH *et al.*, 2018).

Deve-se enfatizar a importância da identificação de necro-inflamação na EHNA, por ser um dos fatores de risco para a progressão da fibrose. No entanto, o termo é mal definido e pode estar associado à fraca concordância intra e interobservador, que pode levar a diferenças significativas na sua classificação, na interpretação do diagnóstico e no seu tratamento (YOUNOSSI *et al.*, 2018a; BEDOSSA *et al.*, 2012; KLEINER 2005; JULURI *et al.*, 2011). Outro ponto que se deve enfatizar é a incapacidade de examinar os componentes da síndrome metabólica ou a história prévia de obesidade devido a perda da massa corporal nos pacientes com cirrose avançada, e a sobrecarga de fluidos podendo superestimar o IMC (SBC, 2007).

O estudo revelou, que os escores de Ishak, Brunt e NAS não são suficientes para auxiliar na classificação das doenças hepáticas causadas por álcool, HBV e EHNA no estágio avançado da cirrose. No entanto, as alterações das características morfológicas mantiveram-se nos casos de cirrose criptogênica. Diante disso, é de insuma importância associar os dados histopatológicos com a triagem clínica do paciente, como a ausência de alcoolismo, marcadores virais e auto-imunes negativos para o auxílio de diagnóstico (CRABB *et al.*, 2016).

Frente as análises dos ligantes PPARs, o PPAR $\gamma$  apresentou uma discreta expressão no citoplasma das células hepáticas no grupo controle (doador) e uma expressão fraca a moderada no citoplasma das células dos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica.

O PPAR $\gamma$  foi relatado previamente por ser localizado principalmente no núcleo, porém, há estudos que relatam a sua predominância nuclear em tecidos não neoplásicos e com forte presença citoplasmática em tecidos tumorais (BURGERMEITER *et al.*, 2008; BEGER, 2002; BERGER *et al.*, 2000). Estes relatos estão de acordo com os resultados desta pesquisa.

A expressão imuno-histoquímica dos PPAR $\beta/\delta$  no citoplasma dos hepatócitos corrobora com o trabalho de Yang e colaboradores (2011) que demonstraram a predominância do PPAR $\beta/\delta$  no citoplasma das células epiteliais da mucosa normal, em células tumorais de câncer primário e nas metástases linfonodais, com pouca expressão nuclear. Esses achados também estão em consonância com outros trabalhos relatados na literatura (YOSHINAGA *et al.*, 2009; TAKAYAMA *et al.*, 2006).



No grupo de cirrose por álcool estudado foi relatada uma maior frequência de expressão da imunorreatividade do PPAR $\beta/\delta$  ( $p < 0,001$ ) e do NF- $\kappa$ B ( $p = 0,026$ ) no citoplasma dos hepatócitos em relação ao grupo doador. Adicionalmente, verificou-se uma elevação da frequência de expressão da IL-6 nas células de kupffer e na região periportal/sinusoidal ( $p = 0,005$ ;  $p = 0,013$ , respectivamente) em relação ao grupo doador. Estes dados ressaltam os dados encontrados na histologia onde foi encontrado uma maior evidência da inflamação na região portal neste grupo.

O grupo de cirrose por HBV apresentou uma expressão significativa no citoplasma dos hepatócitos do PPAR $\beta/\delta$  ( $p < 0,001$ ), porém, com uma baixa expressão do PPAR $\gamma$  em relação ao grupo doador. Já, no grupo de cirrose por EHNA a frequência de expressão tanto do PPAR $\gamma$  como do PPAR $\beta/\delta$  estava baixo no citoplasma dos hepatócitos. Quanto a IL-6, foi observado uma elevação nas células de kupffer e na região periportal/sinusoidal nos pacientes com EHNA ( $p = 0,005$ ;  $p = 0,013$ ). Entretanto, o grupo de cirrose por HBV apresentou uma porcentagem de expressão relevante somente na região periportal/sinusoidal ( $p = 0,013$ ). Em relação ao NF- $\kappa$ B não houve expressão significativa em ambos grupos.

É reconhecido na literatura que os metabolitos do etanol, incluindo acetato, acetaldeído e espécies reativas de oxigênio podem induzir uma resposta inflamatória, causando lesões no fígado (WANG *et al.*, 2012a; CEDERBAUM, 2012; ZAKHARI, 2007; DENG e DEITRICH, 2006). Os estímulos pró-inflamatórios podem induzir a ativação do fator NF- $\kappa$ B, sendo um fator chave de transcrição para a regulação ou estimulação da resposta inflamatória nestes pacientes (ZENG *et al.*, 2016; LOUVET e MATHURIN, 2015; CREWS *et al.*, 2015; NAGY, 2015; SCHWABE *et al.*, 2001).

O NF- $\kappa$ B apresenta uma forma inativa intracelular podendo ser ativado imediatamente após a estimulação celular por diferentes tipos de estresses, tais como citocinas pró-inflamatórias, produtos provenientes de vírus e bactérias, toxinas e estresse físico-químico. Quando ativado, transloca-se para o núcleo levando um aumento na expressão de genes alvo, regulando vários processos biológicos, respostas inflamatórias e processos de apoptose (EL OKLE *et al.*, 2018; BETTERMANN, 2017; NELSON *et al.*, 2004).

Contudo, a ativação da via do NF- $\kappa$ B, além de estimular a secreção de citocinas pró-inflamatórias pode influenciar diretamente na sinalização da insulina e da lipogênese no fígado e sob condições excessiva pode ocorrer uma evolução da lesão hepática alterando a estrutura dos hepatócitos, prejudicando a sua função, podendo levar à apoptose dos hepatócitos e a esteato-hepatite (DEVISSCHER *et al.*, 2016; SHEN *et al.*, 2014; COHEN *et al.*, 2011; GREGOR *et al.*, 2011; HOLLAND *et al.*, 2011). Porém, a supressão do fator NF-

$\kappa$ B pode atenuar a atividade das células hepáticas estreladas, sendo um mecanismo potencial para a supressão da inflamação e dos efeitos pró-fibróticos no fígado (FANG *et al.*, 2017).

Segundo Wolf e colaboradores (2014) os níveis de IL-6 estão aumentados na presença de obesidade e na resistência à insulina, sendo um fator preditor para o desenvolvimento da DM tipo 2. Neste contexto, a expressão elevada da IL-6 no fígado pode estar associada com a gravidade da doença e a exposição crônica a esta citocina, pode comprometer a regeneração hepática e desencadear um avanço na doença por apoptose e morte celular (SCHAPER *et al.*, 2015; KISHIMOTO *et al.*, 2010; TARANTINO *et al.*, 2013).

Em um estudo experimental ao observar o efeito hepatoprotetor e anti-inflamatório da Wogonina em modelos de animais tratado com etanol e em células *in vitro*, conseguiram demonstrar que o PPAR $\gamma$  encontrava-se em menor expressão na doença hepática alcoólica. Foi demonstrado na análise de coloração da imuno-histoquímica que o tecido hepático apresentava uma expressão negativa do PPAR $\gamma$  e uma elevação da IL-6 no teste imunoenzimático (ELISA). Ao observar o efeito da Wogonina nas células *in vitro* induzidas com etanol, observou uma maior expressão do PPAR $\gamma$  que correlacionou com a inibição do NF- $\kappa$ B e da IL-6, atenuando na resposta inflamatória. Estes dados comprovam a interligação da expressão do PPAR $\gamma$  com a ação inflamatória (LI *et al.*, 2017).

Outro estudo com modelo animal (MENG *et al.*, 2019), ao observar o comportamento de um derivado da esperidina (4-MCH) em camundongos tratados com etanol, demonstrou que este composto pode estimular a liberação do PPAR $\gamma$  e reduzir a liberação de citocinas inflamatórias, como a IL-6 e o TNF- $\alpha$  desempenhando, assim, um importante papel anti-inflamatório. Este estudo, também demonstrou que a supressão do PPAR $\gamma$  nos animais tratados com etanol apresentou maior infiltrado inflamatório.

Cheng *et al.* (2018) e Riserus *et al.* (2008), relataram que a ativação do PPAR $\gamma$  e do PPAR $\beta/\delta$  pode evitar os danos da toxicidade induzidos pelo etanol, reduzindo o conteúdo de gordura hepática, melhorando a sensibilidade à insulina e os níveis de lipídios plasmáticos. Adicionalmente, a literatura relata que o PPAR $\gamma$  e PPAR $\beta/\delta$ , pode prevenir os efeitos hepáticos induzidos pelo etanol, suprimindo a lipogênese, modulando o metabolismo de aminoácidos, melhorando a resistência à insulina, reduzindo a ativação do fator NF- $\kappa$ B e do estresse oxidativos (BOJIC *et al.*, 2014; BOJIC *et al.*, 2013; GOUDARZI *et al.*, 2013; SCHNEGG *et al.*, 2012).

Como discutido anteriormente, o PPAR $\beta/\delta$  está envolvido na regulação da homeostase da glicose e dos lipídios (ZHANG *et al.*, 2017; VÁZQUEZ-CARRERA *et al.*, 2016), e tem sido proposto como um alvo terapêutico para o tratamento da síndrome metabólica

(SALVADÓ *et al.*, 2012). No fígado, possui um papel importante na ativação de macrófagos com propriedades anti-inflamatórias e proteção contra lipotoxicidade, promovendo a diminuição do estresse oxidativo (CAVE *et al.*, 2016; NEELS e GRIMALDI, 2014; KHOZOIE *et al.*, 2012; TAILLEUX *et al.*, 2012; ADHIKARY *et al.*, 2011).

A deficiência do PPAR $\beta/\delta$  pode resultar em uma hiperplasia regenerativa de células hepáticas sugerindo, assim, que a sua expressão pode proteger o fígado contra o aumento da proliferação celular, prevenir a esteatose hepática, diminuir efetivamente os TG intracelulares e aumentar o fluxo autofágico nas células hepáticas mantendo, assim, a homeostase intra-hepática (LEI *et al.*, 2019; BOJIC *et al.*, 2014). Nesse sentido, o trabalho de Iwaisako e colaboradores (2012) demonstraram um efeito hepatoprotetor e antifibrótico ao utilizar o agonista PPAR $\beta/\delta$  ativo em modelos de animais com fibrose hepática, sendo os hepatócitos como a principal população de células-alvo expressando o PPAR $\beta/\delta$ . Esses achados demonstram claramente a importância da expressão positiva do PPAR $\beta/\delta$ . Este dado, indica que a determinação da transcrição do PPAR $\beta/\delta$ , possa exercer um efeito benéfico, melhorando a esteatose hepática, protegendo da resposta inflamatória exacerbada e da formação de fibrose hepática nos pacientes com cirrose (IWAISAKO, *et al.* 2012; SHAN, *et al.*, 2008).

Os pacientes com EHNA, geralmente apresentam uma inflamação metabólica caracterizada por níveis elevados de proteínas C-reativas e de várias interleucinas (JIANG *et al.*, 2016). Em consonância com esses dados o trabalho Li e colaboradores (2019) observaram um nível elevado de atividades inflamatórias nos camundongos com uma dieta rica em gordura, incluindo um aumento no número de células inflamatórias e níveis elevados de marcadores de inflamação hepática, tais como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10.

A estimulação do NF- $\kappa$ B é evidenciada em amostras de biópsias hepáticas de pacientes com EHNA (RIBEIRO *et al.*, 2004). Estudos em modelos de roedores com o desenvolvimento de NAFLD/NASH relatam um aumento da atividade do NF- $\kappa$ B associado a esteatose, inflamação e a resistência à insulina no fígado (DELA PEÑA *et al.*, 2005; ROMICS *et al.* 2004). Em suma, a interferência na translocação nuclear do NF- $\kappa$ B pode melhorar a resistência à insulina, esteatose e inflamação no fígado, porém, alguns dados experimentais relataram que a deleção do NF- $\kappa$ B em camundongos aumentam a inflamação e a fibrose (LOCATELLI *et al.*, 2013; OAKLEY *et al.*, 2005; KATO *et al.*, 2002).

Em modelos experimentais com indução da EHNA, foi observado que o PPAR $\beta/\delta$  melhorou a esteatose hepática e a inflamação através da regulação do metabolismo lipídico (BARROSO *et al.*, 2011; ODEGAARD *et al.*, 2007). Serrano-Marco e colaboradores em

2012, relataram que a ativação do PPAR $\beta/\delta$  em ensaios biológicos *in vitro* com células de fígado HepG2 reduz a inflamação e a resistência à insulina induzidas pela IL-6. Por sua vez, a ativação dos PPARs pode ocasionar uma melhora nos pacientes com EHNA através da via de supressão da lipogênese e aumentar a eliminação dos ácidos graxos hepáticos associados a  $\beta$ -oxidação (COTTART *et al.*, 2014; PAWLAK *et al.*, 2014). Adicionalmente, a redução da expressão de PPAR $\gamma$  nas células hepáticas pode ocasionar uma formação excessiva de tecido fibrótico e uma resistência à insulina, ocasionando uma progressão da doença hepática (ZHANG *et al.*, 2018; SOUZA-MELLO *et al.*, 2015; HALL *et al.*, 2014; MORAN-SALVADOR *et al.*, 2011; ZHENG *et al.*, 2011).

Ao analisar o grupo de cirrose criptogênica os resultados mostraram uma frequência maior na porcentagem de expressão tanto do PPAR $\gamma$  quanto do PPAR $\beta/\delta$  no citoplasma dos hepatócitos ( $p=0,009$ ;  $p<0,001$ ). Supreendentemente, com a expressão positiva dos PPARs houve uma expressão negativa da IL-6 nas células de kupffer e na região periportal/sinusoidal. Quanto ao NF- $\kappa$ B não houve expressão significativa no citoplasma das células hepáticas.

Orfila e colaboradores (2005), investigaram a distribuição dos fatores NF- $\kappa$ B, PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$  em amostras de fígado cirróticos de ratos induzidos pela intoxicação por tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>). Na análise da imuno-histoquímica foi verificado um aumento significativo do NF- $\kappa$ B nos hepatócitos e nas células de Kupffer. Quanto aos PPARs, foi relatado um número menor do PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$  nos hepatócitos, porém, uma elevada expressão nas células de kupffer. A ativação do NF- $\kappa$ B correlacionou-se negativamente com a transcrição das isoformas alfa e gama do PPAR nos hepatócitos e positivamente nas células de Kupffer. Assim, pode-se verificar que a expressão dos PPARs correlaciona-se com o teor de expressão do NF- $\kappa$ B podendo ter um comportamento diferente dependendo do local de ativação.

Contudo, não houve expressão significativa PPAR $\gamma$  no citoplasma dos hepatócitos nos pacientes com cirrose por álcool, cirrose por HBV e cirrose por EHNA. Em virtude a essa diminuição, houve um aumento da IL-6 que estão interligados aos achados inflamatórios histológicos. Assim, as análises mostraram que houve uma expressão positiva da IL-6 nesses pacientes, a qual aumenta significativamente com a intensidade do infiltrado, o que sugere que um excesso de gordura no fígado anteriormente pode ter diminuído a expressão dos PPARs causando a desregulação do efeito protetor anti-inflamatório. Essa desregulação pode estar relacionada com o processo da gravidade da esteatose, necro-inflamação e fibrose (SENDI *et al.*, 2018; GRIGORESCU *et al.*, 2012; WIECKOWSKA *et al.*, 2008).

Em contraste, os resultados, demonstraram que os pacientes com cirrose criptogênica apresentam uma elevação de ambos PPARs (PPAR $\gamma$  e PPAR $\beta/\delta$ ) no citoplasma dos hepatócitos no processo de cirrose avançada. Não há relatos na literatura sobre a expressão imuno-histoquímica desses marcadores na cirrose criptogênica. Contudo, sabe-se que a ativação dos PPARs é precisamente coordenada durante a adipogênese (HANSEN *et al.*, 2001). Dessa forma, um aumento simultâneo nos níveis de PPAR $\gamma$  e PPAR $\beta/\delta$  pode levar a uma ativação da via lipogênica causando oxidação ou acúmulo de lipídios no fígado e uma redução do fator NF- $\kappa$ B e da IL-6 (REILLY e LEE, 2008; LEE *et al.*, 2006; CHUNG *et al.* 2000). Tal fato, poderia explicar a presença da esteatose relatada nos escores da avaliação histológica.

Em suma, o PPAR $\gamma$  demonstrou ser um fator de transcrição crítico para a redução dos fatores inflamatórios da IL-6. Este dado indica que a determinação da transcrição dos PPAR $\gamma$  exerce um papel importante nos pacientes com cirrose criptogênica. Sugere-se que seja um possível marcador de atividade da doença nesses pacientes, porém mais estudos devem ser evidenciados para a afirmação dessa hipótese.

Os dados laboratoriais, demonstraram níveis normais de glicose na maioria dos casos nos grupos de cirrose por EHNA e cirrose criptogênica. Já, os grupos de cirrose por álcool (100%) e por HBV (60%) apresentaram-se com níveis de glicose elevado nos exames pré TX. Quanto aos níveis de lipídeos, o CT apresentou-se normal na maioria dos casos dos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV e na cirrose criptogênica, porém, o grupo de cirrose por EHNA apresentou-se com níveis baixos. Os níveis de TG estavam normais e os níveis de HDL-c estavam baixos na maioria dos casos de todos os grupos de cirrose.

A detecção de hipergliceridemia e hiperlipidemia no sangue em jejum é um importante fator para entender o grau de necrose das células do fígado, e a sua monitorização pode ser útil para prever as taxas de sobrevivência em pacientes com fibrose (YU-MIN *et al.*, 2019; XIE *et al.*, 2016; BECHMANN *et al.*, 2012). Os baixos níveis de CT, TG e de lipoproteínas plasmáticas, são achados comuns na cirrose (CHROSTEK *et al.*, 2014; LEITE *et al.*, 2012; GHADIR *et al.*, 2010).

Em contraste, a hepatite B crônica com esteatose hepática demonstra um impacto significativo na sensibilidade à insulina e no metabolismo da glicose e dos lipídeos (NAU *et al.*, 2014; HSIEH e HSIEH, 2011; WANG, *et al.*, 2008). Alguns estudos demonstraram níveis séricos mais baixos de CT e HDL-c e intolerância à glicose nos pacientes com infecção crônica por HBV (HSU *et al.*, 2012; SU *et al.*, 2002). Algumas evidências sugerem que a

infecção crônica pelo HBV tem uma associação inversa com o perfil lipídico, incluindo CT, TG, HDL-c e a LDL-c (JOO *et al.*, 2019; ZHU *et al.*, 2017; PAIS *et al.*, 2015).

Vere e colaboradores (2012) realizaram uma comparação dos níveis de lipídeos plasmáticos nos grupos de cirrose por HCV, cirrose por HBV versus grupo saudável. Os autores incluíram apenas pacientes cirróticos com doença hepática avançada para investigar o impacto da gravidade da cirrose no metabolismo lipídico, independentemente da etiologia viral. Os resultados do estudo demonstraram que os níveis séricos de lipídios (CT, HDL-c e LDL-c) foram menores em pacientes com estágios avançados da doença hepática, enquanto nenhuma diferença foi observada nos valores de TG entre os grupos. Este achado sugere que, a infecção por HBV pode ter um efeito sinérgico com a RI no dano hepático causando uma resposta inflamatória através do aumento de citocinas pró-inflamatórias, causando lipotoxicidade e esteatose hepática, contribuindo assim, para o agravamento da lesão hepática (PETERSEN e SHULMAN., 2018; CHEN *et al.*, 2018; YUKSEL *et al.*, 2016).

Em 2012, Leite e colaboradores realizaram análises dos parâmetros de glicose e do perfil lipídico em 290 pacientes. O estudo foi composto por 47 pacientes com CC, 47 pacientes com EHNA e 196 pacientes com cirrose secundária ao HCV e/ou abuso de álcool. Estes autores em suas considerações demonstraram que, os níveis de glicose estavam elevados em todos os grupos, não havendo diferença significativa entre eles. Ainda neste estudo, foi relatado que o grupo de CC, apresentava níveis normais de CT em 72% e níveis normais de TG em 83,7% dos pacientes. Porém, o grupo de HCV e/ou abuso de álcool apresentaram níveis a elevados do CT e do TG. Já, o grupo EHNA, obteve 61,5% de elevação do CT e 62,5% do TG, tornando seu perfil lipídico diferente dos outros grupos. Quanto ao HDL-c, o grupo de CC apresentou-se com valores baixos em 36,4% dos homens, mas não diferiram no grupo NASH (53,8%) e no grupo de cirrose por HCV e/ou álcool (40,2%). Entre as mulheres, os níveis baixos de HDL-c no grupo CC (81%) foi superior ao encontrado nos outros grupos (50,8%) no grupo cirrose por HCV e/ou álcool e 32% em pacientes com EHNA.

Esses achados diferem dos resultados encontrados quanto ao grupo de EHNA, pois, a maioria dos pacientes apresentaram níveis baixos de CT e níveis normais de TG e glicose de jejum. Entretanto, o grupo de cirrose criptogênica apresentou níveis normais de CT, TG e glicose em jejum. A hipertrigliceridemia e a hipercolesterolemia não se mantiveram como fatores associados à cirrose na EHNA e na cirrose criptogênica. Tal fato, poderia provavelmente ser explicado devido a perda das características iniciais no avanço da doença hepática.

Na avaliação dos parâmetros bioquímicos, foi possível observar que a porcentagem da ALT estava elevada na cirrose por EHNA e cirrose criptogênica. Já, a AST estava elevada nos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica.

O nível sérico de ALT é utilizado como auxílio nas avaliações das doenças hepáticas e o seu nível geralmente é maior que o da AST, mas a relação pode ser revertida quando a doença progride para cirrose (ZHOU *et al.*, 2019; HU *et al.*, 2019; COLANTONIO *et al.*, 2012; PERRILLO *et al.*, 2002). A ALT pode estar correlacionada com o processo de inflamação no fígado, mas a sua correlação com a necro-inflamação não é satisfatória, principalmente na fibrose (GOBEL *et al.*, 2011; PRATI *et al.*, 2002). Podendo ser afetada pela idade, índice de massa corporal, sexo, metabolismo de lipídios e uremia (SHIM *et al.*, 2018; KARIV *et al.*, 2006; PRATI *et al.*, 2002).

A sensibilidade e especificidade de um nível elevado de ALT para o diagnóstico de esteato-hepatite não alcoólica é de 45% a 85%, correlacionando-se com a resistência à insulina e o conteúdo de gordura intra-hepática (BAYARD *et al.*, 2006). Chuah e colaboradores (2019) ao estudar a relação do biomarcador MACK-3 com os índices de HOMA, AST, ALT e CK18 em pacientes com esteato-hepatite não alcoólica, demonstraram que a ALT estava mais elevada que a AST nos pacientes sem fibrose e os pacientes com fibrose apresentavam níveis elevados tanto da AST quanto da ALT. Em concordância, o nosso estudo apresentou níveis elevados de ALT (57%) e de AST (71,4%) no grupo de cirrose por EHNA.

Yalamanchili e colaboradores (2010) observaram que, os níveis da AST e a ALT eram elevados nos pacientes com EHNA e CC, não sendo significativos entre os grupos, porém, apresentavam valores mais baixos que as outras indicações para transplantes de cirrose hepática. Alguns trabalhos relatam que os níveis de AST e ALT na CC, tende a ser menores do que nos outros grupos, principalmente ao comparar com EHNA (CALDWELL, 2010b; BUGIANESI *et al.*, 2002; BERG *et al.*, 2002; AYATA *et al.*, 2002).

Em contra partida o trabalho de Vespasiani-Gentilucci e colaboradores (2016) ao analisar a atividade da lipase ácida lisossômica em paciente diagnosticados com cirrose criptogênica e cirrose de etiologia conhecida, demonstraram que o grupo de CC apresentavam níveis elevados de ALT e AST em relação aos resultados dos indivíduos saudáveis. Porém, os pacientes com cirrose de etiologia conhecida apresentavam níveis mais elevados de ALT que os pacientes com CC.

Embora um nível persistentemente elevado de ALT possa estar associado a um aumento do risco de progressão da doença, pacientes com doenças avançadas geralmente

podem apresentar níveis normais de enzimas hepáticas, tornando a identificação dos pacientes em risco mais sutil (AMARAPURKAR *et al.*, 2004; MOFRAD *et al.*, 2003). Mas, pode-se argumentar que, as transaminases podem ainda estar elevadas nas doenças hepáticas crônicas.

A maioria dos pacientes dos grupos de cirrose por álcool, cirrose por HBV, cirrose por EHNA e cirrose criptogênica apresentaram níveis elevados da GGT e níveis normais da FA. O aumento da GGT e da FA no sangue, geralmente estão correlacionados com insuficiência hepática, processo inflamatórios e a progressão de fibrose no fígado (HU *et al.*, 2019; XIAO *et al.*, 2014; LAMMERS *et al.*, 2014; TIAN *et al.*, 2011; SAITO *et al.*, 2009).

Estudos mostraram que os níveis elevados da GGT podem estar associados a progressão da cirrose e ao carcinoma hepatocelular (LAMMERS *et al.*, 2014). Van den Berga e colaboradores (2018), ao comparar as características clínicas dos pacientes diagnosticados com EHNA com pacientes com cirrose por diversas causas (não-EHNA), incluindo doença hepática por HBV, CC e álcool, observaram que os níveis da FA eram significativamente maiores no grupo não-EHNA. Já, a GGT, estava elevada tanto no grupo de EHNA quanto no grupo de não-NASH, porém, não demonstrou diferença significativa entre os grupos. Já, os dados da pesquisa demonstram que a FA não apresentou significância nos grupos de estudo, porém, a GGT manteve-se elevada nos grupos com cirrose hepática avançada.

Nas análises entre os grupos observou-se que os pacientes com cirrose criptogênica apresentam valores baixos de sódio. A hiponatremia é a anormalidade eletrolítica mais comum em pacientes com cirrose avançada, sendo um marcador de gravidade da cirrose, prevalecendo em pacientes com Child-Pugh classe C (GUEVARA *et al.*, 2009; GINÈS e GUEVARA 2008). A maioria dos casos podem apresentar hiponatremia hipervolêmica ocasionada pelo aumento do volume de líquido extra-celular (GINÈS e GUEVARA, 2008; IWAKIRI e GROSZMANN, 2007). Os pacientes com cirrose geralmente, podem apresentar uma redução do volume sanguíneo arterial efetivo, causada pela vasodilatação arterial esplênica derivada do aumento da produção de óxido nítrico, endotoxinas e outros vasodilatadores (SCHRIER *et al.*, 2006). Isso leva a ativação do eixo renina-angiotensina-aldosterona e ao comprometimento da excreção de água livre secundária ao excesso de hormônio antidiurético (VILSTRUP *et al.*, 2014).

Nas análises dos parâmetros da bilirrubina (BT, BD e BI), hematócrito, plaquetas, fibrinogênio e hemoglobina observaram-se níveis alterados nos pacientes com cirrose criptogênica em relação aos valores de referência. Ao analisar os valores das médias da hemoglobina e do hematócrito, observou-se que os grupos de cirrose por álcool e a cirrose criptogênica apresentaram níveis mais baixos.



Na doença hepática crônica há uma necrose maciça de hepatócitos, que resulta na diminuição da absorção, transporte, ligação e excreção da bilirrubina (TAN *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2018; GAUR e SAKHUJA, 2017; BOYER, 2013). Além disso, sabe-se que pacientes com alto nível de bilirrubina têm um mau prognóstico (YU-MING *et al.*, 2019). Assim, a medição do nível sérico de bilirrubina total encontrado nestes pacientes está positivamente correlacionada com grau de necrose dos hepatócitos.

É reconhecido que a estabilidade da hemostasia é prejudicada pelos efeitos da doença hepática avançada, atuando na inibição da síntese de fatores de coagulação causando anormalidades na atividade fibrinolítica, coagulação intravascular disseminada e defeitos de função plaquetária (LESURTEL *et al.*, 2010 ZOCCO *et al.*, 2009; TRIPODI *et al.*, 2009). Sabe-se, ainda, que a anemia hemolítica está comumente presente na doença hepática crônica, particularmente na cirrose estando associada ao um maior risco de mortalidade (MCHUTCHISON *et al.*, 2006). Os níveis de hematócrito e plaquetas podem diminuir à medida que são afetados pelo hiperesplenismo e o excesso de células hepáticas danificadas, tendo assim, uma ligação com a esplenomegalia, sendo um fator de risco para trombose da veia portal (KUROKAWA *et al.*, 2017; KARA *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2011).

No presente estudo, foi observado níveis séricos baixos de albumina nos pacientes com cirrose por EHNA e cirrose criptogênica e níveis mais baixos no grupo de cirrose por álcool. Thuluvath e colaboradores (2018), ao comparar os resultados pós-transplante nos pacientes entre cirrose criptogênica, EHNA, alcoólica e cirrose autoimune, observaram que o grupo de EHNA e o grupo de CC apresentavam níveis mais baixos de albumina sérica do que os grupos de cirrose por álcool. Na doença hepática crônica, os níveis baixos de albumina sérica, estão relacionadas ao declínio da função hepática ocasionados pela disfunção da síntese e da degradação dos espaços intra e extravasculares (LEVITT e LEVITT, 2016; ZHU e HAN, 2015; AL GHUMLAS *et al.*, 2005; FAHIM *et al.*, 2000).

Este estudo é o primeiro a evidenciar os marcadores imuno-histoquímicos PPAR $\beta/\delta$  e PPAR $\gamma$  em explantes humanos na cirrose criptogênica. Novos ensaios com uma amostra maior de pacientes são necessários para obter um resultado mais significativo.

## 6. CONCLUSÕES

De acordo com as observações verificadas neste estudo pode-se inferir que, os preditores laboratoriais e histológicos não são suficientes para auxiliar na classificação da doença hepática crônica de base. Na avaliação da possível relação etiológica entre a cirrose criptogênica com a esteato-hepatite e hepatite B, reconheceu-se que não houve uma relação causal.

A expressão negativa do PPAR $\gamma$  apresentou uma relação positiva com a IL-6 nos pacientes com cirrose por álcool, cirrose por HBV e cirrose por EHNA na fase avançada da doença. Os pacientes com cirrose criptogênica apresentaram uma elevação tanto do PPAR $\beta/\delta$  como do PPAR $\gamma$  e uma expressão negativa da IL-6, mesmo no processo crônico avançado.

O PPAR $\gamma$  demonstrou ser um fator de transcrição crítico para a redução da expressão da IL-6 podendo causar uma redução do infiltrado inflamatório na fase avançada da cirrose criptogênica. A ativação dos ligantes PPARs indicam um possível alvo das funções regulatórias dos mecanismos fisiológicos ligados aos metabolismos energéticos e inflamatórios que poderiam auxiliar na detecção das principais alterações visualizadas nas doenças hepáticas criptogênicas.

## REFERÊNCIAS

- ABAKAR, M. A. A.; KAFI, S. K.; AHMAD-ABAKUR, E. H.; HAMMAD, M. M. A. Assessment of ast and alt among different clinical categories of HBV infected individuals at khartoum state sudan. **World J. of Pharmaceutical Researc.**, v. 8, p. 559-568, 2019.
- ABULUDE DORE, A. G; GUAN, R., JAFRI, W.; SARIN S., Management of chronic hepatitis B in challenging patient populations. **Liver Int.**, v. 26, p. 38–46, 2005.
- ADHIKARY, T.; KADDATZ, K. F.; FINKERNAGEL, A.; SCHOENBAUER, W. *et al.* Genomewide analyses define different modes of transcriptional regulation by peroxisome proliferator-activated receptor Receptor- $\beta/\delta$  (PPAR $\beta/\delta$ ). **PLoS One**, v. 6, p. 1-10, 2011.
- AGARWAL, N; NAIK, S.; AGGARWAL, R.; SINGH, H.; SOMANI, S. K. *et al.* Occult hepatitis B virus infection as a cause of cirrhosis of liver in a region with intermediate endemicity. **Indian J. Gastroenterol.**, v. 22, p. 127–31, 2003.
- AHMADIAN, M.; SUH, J. M.; HAH, N.; LIDDLE, C.; ATKINS, A. R.; DOWNES, M.; EVANS, R. M. PPARgamma signaling and metabolism: the good, the bad and the future. **Nat. Med.**, v. 19, p. 557–566, 2013.
- AHMED, M. Non-alcoholic fatty liver disease in 2015. **World J. of hepatology**, v. 7, p. 1450-1459, 2015.
- AHMED, A.; RABBITT, E.; BRADY, T.; BROWN, C.; GUEST, P.; BUJALSKA I. J.; DOIG, C.; NEWSOME P. N. *et al.* A switch in hepatic cortisol metabolism across the spectrum of non alcoholic fatty liver disease. **PLoS One**, v. 7, p. 1 11, 2012.
- AL GHUMLAS, A. K.; ABDEL GADER, A. G.; AL FALEH, F. Z. Haemostatic abnormalities in liver disease: Could some haemostatic tests be useful as liver function tests? **Blood Coagul Fibrinolysis**, v. 16, p. 329-335, 2005.
- AL-BUSAFI, S. A.; HILZENRA, T. N. Mild Hypertransaminasemia in Primary Care. **ISRN Hepatology.**, v. 2013, p. 1-6, 2013.
- AMARAPURKAR, D. N.; PATEL, N. D. Clinical spectrum and natural history of non-alcoholic steatohepatitis with normal alanine aminotransferase values. **Tropical gastro. official J. of the Digestive Dis. Found.**, v. 25, p. 130-134, 2004.
- AMATO, A. A.; RAJAGOPALAN, S.; LIN, J. Z.; CARVALHO, B. M.; FIGUEIRA, A. C. *et al.* GQ-16, a novel peroxisome proliferator-activated receptor gamma PPARgamma ligand, promotes insulin sensitization without weight gain. **J. Biol. Chem.**, v. 287, p. 28169-28179, 2012.
- ÂNGULO, P.; KLEINER, D. E.; DAM-LARSEN, S. *et al.* Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, v. 149, p. 389-397, 2015.

ANGULO, P.; LINDOR, K. Non-alcoholic fatty liver disease. **J. of Gastroenterology and Hepatology**, v. 17, p. 186–190, 2002.

ANTHONY, P. P.; ISHAK, K. G.; NAYAK, N. C.; POULSEN, H. E. *et al.* The morphology of cirrhosis. Recommendations on definition, nomenclature, and classification by a working group sponsored by the World Health Organization. **J. Clin. Pathol.**, v. 31, p. 395-414, 1978.

APRILE M.; AMBROSIO, M. R.; D'ESPOSITO, V.; BEGUINOT, F.; FORMISANO, P.; COSTA, V.; CICCODICOLA, A. PPAR $\gamma$  in Human Adipogenesis: Differential Contribution of Canonical Transcripts and Dominant Negative Isoforms. **PPAR Res.**, v. 2014, p. 537865, 2014.

ARAGON, G.; YOUNOSSI, Z. M. “When and how to evaluate mildly elevated liver enzymes in apparently healthy patients”. **Cleveland Clinic. J. of Medicine**, v. 77, p. 195– 204, 2010.

ARANDA, A.; PASCUAL, A. Nuclear hormone receptors and gene expression. **Physiological Reviews**, v. 81, p. 1269-1304, 2001.

ARROYO, V.; MOREAU, R.; JALAN, R.; GINÈS, P. On behalf of the investigators of the EASL-CLIF Consortium CANONIC Study Acute-on-chronic liver failure: A new syndrome that will re-classify cirrhosis. **Journal of Hepatology**, v. 62, p. 131–143, 2015.

ASSY, N.; KAITA, K.; MYMIN, D. Fatty infiltration of liver in hyperlipidaemic patients. **Dig. Dis. Sci.**, v. 45, p. 1929-1934, 2000.

ASTARCI, E.; BANERJEE, S. PPAR $\gamma$  peroxisome proliferator-activated receptor gamma. **Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.**, v. 13, p. 417-21, 2009.

AYATA, G.; GORDON, F. D.; LEWIS, W. D. *et al.* Cryptogenic cirrhosis: clinicopathologic findings at and after liver transplantation. **Human Pathol.**, v. 33, p. 1098–1104, 2002.

BACON, B. R; FARAHVASH, M. J.; JANNEY, C. G.; NEUSSCHWANDER-TETRI, B. A. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. **Gastroenterology**, v. 107, p. 1103-1109, 1994.

BAKER, R. G.; HAYDEN, M. S.; GHOSH, S. NF- $\kappa$ B, inflammation and metabolic disease. **Cell Metab.**, v. 13, p. 11–22, 2011.

BARROSO. E.; RODRÍGUEZ-CALVO, R.; SERRANO-MARCO, L. *et al.* The PPAR $\beta/\delta$  activator GW501516 prevents the down-regulation of AMPK caused by a high-fat diet in liver and amplifies the PGC- 1 $\alpha$ -lipin 1-PPAR $\alpha$  pathway leading to increased fatty acid oxidation. **Endocrinology**, v. 152, p. 1848–1859, 2011.

BATTS, K. P.; LUDWIG, J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 19, p. 1409-1417, 1995.

BAYARD, M.; HOLT, J.; BOROUGHS, E. Nonalcoholic fatty liver disease. **Am. Fam. Physician.**; v. 73, p. 1961-1968, 2006.

BECHMANN, L. P.; HANNIVOORT, R. A.; GERKEN, G. *et al.* The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. **J. Hepatol.**, v. 56, p. 952–964, 2012.

BECKINGHAM, I. J.; RYDER, S. D. ABC of diseases of liver, pancreas, and biliary system Investigation of liver and biliary disease. **Clinical review**, v. 322, p. 33-36, 2001.

BEDOGNI, G.; BELLENTANI, S.; MIGLIOLI, L.; MASUTTI, F.; PASSALACQUA, M.; CASTIGLIONE, A. *et al.* The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. **BMC Gastroenterol**, v. 6, p. 33, 2006.

BEDOSSA P. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression FLIP algorithm and steatosis, activity, and fibrosis SAF score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 60, p. 565-575, 2014.

BEDOSSA, P.; POITOU, C.; VEYRIE, N.; BOUILLOT, J. L.; BASDEVANT, A.; PARADIS, V.; TORDJMAN, J.; CLEMENT, K. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. **Hepatology**, v. 56, p. 1751-1759, 2012.

BEDOSSA, P.; POYNARD, T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. **Hepatology**, v. 24, p. 289–293, 1996.

BERGER, J.; MOLLER, D. E. The mechanisms of action of PPARs. **Annu Rev Med.**, v. 53, p. 409-35, 2002.

BERNARDI, M.; CARMEN S.; RICCI, C. S.; ZACCHERINI, G. Role of Human Albumin in the Management of Complications of Liver Cirrhosis. **J. of clinical and exp. Hepatol.**, v. 4, p. 302–311, 2014.

BLACHIER, M.; LELEU, H.; PECK-RADOSAVLJEVIC, M.; VALLA, D.C, ROUDOT-THOR- AVAL, F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. **J Hepatol.**, v. 58, p. 593–608, 2013.

BLASCO, A.; FORNS, X.; CARRION, J. A.; Garcia-Pagan, J. C.; Gilabert, R.; Rimola, A. *et al.* Hepatic venous pressure gradient identifies patients at risk of severe hepatitis C recurrence after liver transplantation. **Hepatology**, v. 43, p. 492-499, 2006.

BOJIC, L. A.; TELFORD, D. E.; FULLERTON, M. D.; FORD, R. J., *et al.* PPAR  $\beta$  activation attenuates hepatic steatosis in Ldlr $^{-/-}$  mice by enhanced fat oxidation, reduced lipogenesis, and improved insulin sensitivity. **J. Lipid Res.**, v. 55, p. 1254 –1266, 2014.

BOJIC, L. A.; HUFF, M. W. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$ : a multifaceted metabolic player. **Current Opinion in Lipidology**, v. 24, p. 171-177, 2013.

BONINO, F.; BRUNETTO, M. R. Chronic hepatitis B e antigen HBeAg negative, anti-HBe positive hepatitis B: an overview. **Journal of Hepatology**, v. 39, p. 160-163, 2003.

BORINI, P.; GUIMARÃES, R. C.; BORINA, S. B. Histopathologic and biochemical liver abnormalities in chronic asymptomatic or oligosymptomatic alcoholics: a review. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**, v. 58 3, p. 147-156, 2003.

- BOYER, J. L. "Bile formation and secretion," **Comprehensive Physiology**, v. 3, p. 1035–1078, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e coinfeções. **Brasília**, 2015.
- BRAUNERSREUTHER, V.; VIVIANI, G. L.; MACH, F.; MONTECUCCO, F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. **World J. Gastroenterol.**, v. 18, p. 727-735, 2012.
- BRAVO, A. A.; SHETH, S. G.; CHOPRA, S. Liver biopsy. **N. Engl. J. Med.**, v. 344, p. 495-500, 2001.
- BRECHOT, C.; THIERS, V.; KREMSDORF, D. *et al.* Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen clinically significant or purely "occult"? **Hepatology**, v. 34, p. 194–203, 2001.
- BRIDGHAM, J. T.; EICK, G. N.; LARROUX, C.; DESHPANDE, K.; HARMS, M. J. *et al.* Protein evolution by molecular tinkering: diversification of the nuclear receptor superfamily from a ligand-dependent ancestor. **PLoS Biol.**, v. 8, p. 1-10, 2010.
- BROWN, T.G.; KLEINER, E. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. **Metabolism.**, v. 65, p. 1080-1086, 2016.
- BROWNING, J. D.; KUMAR, K. S.; SABOORIAN, M. H. *et al.* Ethnic differences in the prevalence of cryptogenic cirrhosis. **Am J Gastroenterol**, v. 99, p. 292–8, 2004.
- BRUNT, E. M.; KLEINER, D. E.; WILSON, L.A; BELT, P.; NEUSCHWANDER-TETRI B. A.; NETWORK, N. C. R. Nonalcoholic fatty liver disease NAFLD activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. **Hepatology**, v. 53, p. 810–820, 2011a.
- BRUNT, E. M.; KLEINER, D. E.; WILSON, L. A. *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease NAFLD activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. **Hepatology**, v. 53, p. 810–20, 2011b.
- BRUNT, E. M; TINIAKOS, D. G. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. **World J. Gastroenterol**, v. 16, p. 5286–5296, 2010.
- BRUNT, E. M. *et al.* Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease NAFLD a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. **Hepatology**, v. 49, p. 809–820, 2009.
- BRUNT, E. M. Nonalcoholic steatohepatitis: pathologic features and differential diagnosis. **Semin, Diagn, Pathol.** v. 22, p. 330–338, 2005.
- BRUNT, E. M.; NEUSCHWANDER-TETRI, B. A.; OLIVER, D, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: histologic features and clinical correlations with 30 blinded biopsy specimens. **Hum. Pathol.**, v. 35, p. 1070– 1082, 2004.

BRUNT, E. M. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. **Semin Liver Dis.**, v. 21, p. 3-16, 2001.

BRUNT, E. M.; JANNEY, C. G.; DI BISCEGLIE, A. M.; NEUSCHWANDER-TETRI, B. A.; BACON, B. R. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 94, p. 2467–2474, 1999.

BUGIANESI, E.; LEONE, N.; VANNI, E.; MARCHESINI, G.; BRUNELLO, F. *et al.* Expanding the Natural History of Nonalcoholic Steatohepatitis: From Cryptogenic Cirrhosis to Hepatocellular Carcinoma. **Gastroenterology**, v. 123, p. 134–140, 2002.

BURGERMEISTER, E.; SEGER, R. PPARgamma and MEK interactions in cancer. **PPAR Res.**, v. 2008, p. 309-469, 2008.

BURKE A; LUCEY, M. R. Non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. **Am J. Transplant**, v. 4, p. 686- 693, 2004.

BUTERWORTH, R. F. Complications of cirrhosis III. Hepatic encephalopathy. **J Hepatol** v. 32, p. 171-80, 2000.

CAI, S.; CAO, J.; YU, T.; XIA, M.; PENG, J. Effectiveness of entecavir or telbivudine therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection pre-treated with interferon compared with de novo therapy with entecavir and telbivudine. *Medicine Baltimore*, v. 96, p. 7021, 2017.

CAI, D.; YUAN, M.; FRANTZ, D. F.; MELENDEZ, P. A.; HANSEN, L.; LEE, J.; SHOELSON, S. E. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. **Nat. Med.**, v. 11, p. 183-190, 2005.

CALDWELL, S; MARCHESINI, G. Cryptogenic vs. NASH-cirrhosis: the rose exists well before its name. **J. Hepatol.**, v. 68, p. 391–392, 2018.

CALDWELL, S.; LACKNER, C. Perspectives on NASH Histology: Cellular Ballooning. **Ann Hepatol.**, v. 16, p. 182–184, 2017.

CALDWELL, S. Cryptogenic Cirrhosis: What Are We Missing? **Curr Gastroenterol Rep.**, v. 12, p. 40–48, 2010a.

CALDWELL, S.; IKURA, Y.; DIAS, D.; ISOMOTO, K.; YABU, A.; MOSKALUK, C.; PRAMOONJAGO, P.; SIMMONS, W.; SCRUGGS, H. *et al.* Hepatocellular ballooning in NASH. **J Hepatol.**, v. 53, p. 719–23, 2010b.

CALDWELL, S. H.; LEE, V. D., KLEINER DE *et al.* NASH and cryptogenic cirrhosis: a histological analysis. **Ann. Hepatol.**, v. 8, p. 346–52, 2009.

CALDWELL, S. H.; CRESPO, D. M. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of nonalcoholic fatty liver disease. **J. Hepatol.**, v. 40, p. 578–584, 2004.

CALDWELL, S. H.; OELSNER, D. H.; IEZZONI, J. C.; HESPENHEIDE, E. E.; BATTLE E. H.; DRISCOLL, C. J. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. **Hepatology**, v. 29, p. 664-669, 1999.

CARVALHO, J. R.; PORTUGAL, F. B.; FLOR, L. S.; CAMPOS, M. R.; SCHRAMM, J. M. A. Método para estimação de prevalência de hepatites B e C crônicas e cirrose hepática Brasil, 2008. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**, Brasília, v. 4, p. 691-700, 2014.

CAVE M. C.; CLAIR, H. B.; HARDESTY, J. E.; FALKNER, K. C.; FENG, W. *et al.* Nuclear receptors and nonalcoholic fatty liver disease. **Biochim Biophys Acta**, v. 1859, p. 1083-1099, 2016.

CEDERBAUM, A. I. Alcohol metabolism. **Clin. Liver Dis.**, v. 16, p. 667- 685, 2012.

CHALASANI, N.; YOUNOSSI, Z.; LAVINE, J. E.; DIEHL, A. M. *et al.* The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. **Hepatology**, v. 55, p. 2005-2023, 2012.

CHALASANI, N.; WILSON, L.; KLEINER, D. E.; CUMMINGS, O. W.; BRUNT, E. M. *et al.* Relationship of steatosis grade and zonal location to histological features of steatohepatitis in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease. **J. Hepatol.**, v. 48, p. 829-34, 2008.

CHAN, H. L.; TSANG, S. W.; LEUNG, N. W.; TSE, C. H.; HUI, Y.; TAN, J. S.; CHAN, F. K.; SUNG, J. J. Occult HBV infection in cryptogenic liver cirrhosis in an area with high prevalence of HBV infection. **American J. of Gastro.**, v. 97 p. 1211-1215, 2002.

CHAWLA, A.; BARAK, Y.; NAGY, L.; LIAO, D.; TONTONOZ, P.; EVANS, R. M. PPAR-gamma dependent and independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. **Nat Med.**, v. 7, p. 48-52, 2001.

CHEN, X.; HAN, Y.; WANG, H. Relations of hepatic steatosis with liver functions, inflammations, glucolipid metabolism in chronic hepatitis B patients **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 22, p. 5640-5646, 2018.

CHEN, X.; MENG, Z.; WANG, X.; ZENG, S.; HUANG, W. The nuclear receptor CAR modulates alcohol-induced liver injury. **Lab. Invest.**, v. 91, p. 1136 -1145, 2011.

CHENG, C.; PAN, T. Monascus-fermented red mold dioscorea protects mice against alcohol-induced liver injury, while its metabolites ankaflavin and monascin regulates ethanol induced PPAR-  $\gamma$  and SREBP-1 expression in HepG2 cells. **J. Sci. Food Agric.**, v. 98, p. 1889-1898, 2018.

CHENG, X. P., ZHAO, J.; CHEN, Y.; MENG, F. K. *et al.* Comparison of the ability of the PDD-ICG clearance test, CTP, MELD, and MELD-Na to predict short-term and medium-term mortality in patients with decompensated hepatitis B cirrhosis. **Europ, J. of Gastroenterol. Hepat.**, v. 28, p. 444-448, 2016.

CHILD, C. G.; TURCOTTE, J. G. Surgery and portal hypertension. In: The liver and portal hypertension. **Edited by CG Child**. Philadelphia: Saunders, v.1, p. 50-64, 1964.



CHROSTEK, L.; SUPRONOWICZ, L.; PANASIUK, A.; CYLWIK, B.; GRUSZEWSKA, E.; FLISIAK, R. The effect of the severity of liver cirrhosis on the level of lipids and lipoproteins. **Clin Exp Med.**, v. 14, p. 417–421, 2014.

CHU, C. M, LIAW, Y.F. HBsAg seroclearance in asymptomatic carriers of high endemic areas: appreciably high rates during a long-term follow-up. **Hepatology**, v. 45, p. 1187- 1192, 2007.

CHUAH, K. H.; WAN YUSOFF, W. N. I.; STHANESHWAR, P.; NIK MUSTAPHA, N. R.; MAHADEVA, S.; CHAN, W. K. MACK-3 combination of hoMa, Ast and CK18 A promising novel biomarker for fibrotic non- alcoholic steatohepatitis. **Liver Int.**, v. 39, p. 1315-1324, 2019.

CLARK, J. M.; DIEHL, A. M. Nonalcoholic fatty liver disease: an underrecognized cause of cryptogenic cirrhosis. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 289, p. 3000–3004, 2003.

CLARKE, W. T., MIRANDA, J.; NEIDICH, E., HUDOCK, R.; PETERS, M. G.; KELLY, E. M. Metabolic syndrome and liver steatosis occur at lower body mass index in US Asian patients with chronic hepatitis B. **J. Viral Hepat.**, v. 00, p. 1–6, 2019.

CODES, L.; SCHINONI, M. I; FREITAS, L. A. R.; ROLIM C. E. *et al.* Hepatite aguda criptogênica: uma entidade heterogênea com possibilidades de complicações. **Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 42, p. 293-298, 2006.

COHEN, J. C. *et al.* 2011 Human fatty liver disease: old questions and new insights. **Science**, v. 332, p. 1519–1523, 2011.

COLANTONIO, D. A.; KYRIAKOPOULOU, L.; CHAN, M. K.; DALY, C. H.; *et al.* Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: a CALIPER database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. **Clin. Chem.**, v. 58, p. 854–868, 2012.

COLLIER, J. Bone disorders in chronic liver disease. **Hepatology**, v. 46, p. 1271-8, 2007.

CONJEEVARAM, H. S.; LOK. A. S. Management of chronic hepatitis B. **Journal of Hepatology**, v. 38, p. 90-103, 2003.

CONTOS, M. J.; CALES, W.; STERLING, R. K.; LUKETIC, V. A.; SHIFFMAN, M. L.; MILLS, A. S.; FISHER, R. A.; HAM, J; SANYAL. A. J. Development of nonalcoholic fatty liver disease after orthotopic liver transplantation for cryptogenic cirrhosis. **Liver Transpl.**, v. 7, p. 363-373, 2001.

COTLER, S. J.; KANJI, K.; KESHAVARZIAN, A. *et al.* Prevalence and significance of autoantibodies in patients with non-alcoholic steatohepatitis. **J. Clin. Gastroenterol**, v. 38, p. 801–804, 2004.

COTTART, C. H.; NIVET-ANTOINE, V.; BEAUDEUX, J. L. Review of recent data on the metabolism, biological effects, and toxicity of resveratrol in humans. **Mol. Nutr. Food Res.**, v. 58, p. 7-21, 2014.

CRABB, D. W.; BATALLER, R.; CHALASANI, N. P. *et al.* Standard Definitions and Common Data Elements for Clinical Trials in Patients With Alcoholic Hepatitis: Recommendation From the NIAAA Alcoholic Hepatitis Consortia. **Gastroenterology**, v. 150, p. 785-790, 2016.

CRAWFORD, J. M. O fígado e o trato biliar. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 6. ed., p. 759-808, 2000.

CREWS, F. T.; SARKAR, D. K.; QIN, L.; ZOU, J.; BOYADJIEVA, N.; VETRENO, R. P. Neuroimmune Function and the Consequences of Alcohol Exposure. **Alcohol Res.**, v. 37, p. 331-341, 2015.

CUNARD, R.; ETO, Y.; MULJADI, J. T.; GLASS, C. K.; KELLY, C. J.; RICOTE, M. Repression of IFN-gamma expression by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. **J. Immunol.**, v. 172, p. 7530-7536, 2004.

CUZZOCREA, S. Peroxisome proliferator-activated receptors and acute lung injury. **Curr Opin Pharmacol.**, v. 6, p. 263-70, 2006.

CZAJA, A. J. Cryptogenic chronic hepatitis and its changing guise in adults. **Dig. Dis. Sci.**, v. 56, p. 3421-38, 2011.

DELA PEÑA, A.; LECLERCQ, I.; FIELD, J.; GEORGE, J.; JONES, B.; FARRELL, G. NF- $\kappa$ B activation, rather than TNF, mediates hepatic inflammation in a murine dietary model of steatohepatitis. **Gastroenterology**, v. 129, p. 1663-1674, 2005.

DENG, X. S.; DEITRICH, R. A. Ethanol metabolism and effects: nitric oxide and its interaction. **Curr. Clin. Pharmacol.**, v. 2, p. 145-153, 2007.

DEVISSCHER, L. *et al.* The role of macrophages in obesity-driven chronic liver disease. **J. Leukoc. Biol.**, v. 99, p. 693-698, 2016.

DIANA NICOLL C. Appendix: Therapeutic drug monitoring and laboratory reference ranges. In: Current medical diagnosis and treatment. **Mc Graw**, 46 edit., hill, p. 1767-1775, 2007.

DING, G.; CHENG, L.; QIN, Q.; FRONTIN, S.; YANG, Q. J. PPARdelta modulates lipopolysaccharide induced TNFalpha inflammation signalling in cultured cardiomyocytes. **Mol. Cell. Cardiol.**, v. 40, p. 821-828, 2006.

DIXON, J. B.; O'BRIEN, P. E.; BHATAL, P. S. A wider view on diagnostic criteria of nonalcoholic steatohepatitis. **Gastroenterology**, v. 122, p. 841-842, 2002.

DOWMAN, J. K.; TOMLINSON, J. W.; NEWSOME, P. N. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. **Q. J. Med.**, v. 103, p. 71-83, 2010.

DREYER, C.; KREY, G.; KELLER, H.; GIVEL, F.; HELFTENBEIN, G.; WAHLI, W. Control of the peroxisomal  $\beta$ -oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. **Cell**, v. 68, p. 879-887, 1992.

DUCLOS-VALLÉE, J. C.; YILMAZ, F.; JOHANET, C. *et al.* Could post-liver transplantation course be helpful for the diagnosis of so called cryptogenic cirrhosis? **Clin Transplant**, v. 19, p. 591-599, 2005.

DUCLOS-VALLÉE, J. C., YILMAZ, F.; JOHANET, C.; ROQUE-AFONSO, A. M.; GIGOU M.; TRICHET, C. *et al.* Could post-liver transplantation course be helpful for the diagnosis of so called cryptogenic cirrhosis? **Hum. Pathol.**, v. 33, p. 1098-104, 2002.

DUFOUR, D.R.; LOTT, J. A.; NOLTE FS, GRETCH, D. R.; KOFF, R. S.; SEEFF, L. B. This study forms the main cohort on the basis of which the EASL CLIF derived the western ACLF definition. It defined the organ failure and outcomes. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. **Clin. Chem.**, v. 46, p. 2027-2049, 2000.

EKSTEDT, M.; HAGSTRÖM, H.; NASR, P. *et al.* Fibrosis stage is the strongest predictor for disease specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. **Hepatology**, v. 61, p. 1547-1554, 2015.

EL ATRACHE, M. M.; ABOULJOUND, M. S.; DIVINE, G.; YOSHIDA, A.; KIM, D.Y.; KAZIMI, M. M. *et al.* Recurrence of non-alcoholic steatohepatitis and cryptogenic cirrhosis following orthotopic liver transplantation in the context of the metabolic syndrome. **Clin Transplant**, v. 26, p. 505-512, 2012.

EL-SERAG, H. B.; TRAN, T.; EVERHART, J. E. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. **Gastroenterol.**, v. 126, p. 460–8, 2004.

ESMAEELZADEH, A.; SAADATNIA, H.; MEMAR, B.; AMIRMAJDI, E. M.; GANJI, A.; GOSHAYESHI, L. *et al.* Evaluation of serum HBV viral load, transaminases and histological features in chronic Abulude OA, Ahmed I and Sadiu FU. Assessment of hepatitis B viral infection as a predictor of hepatic enzymes and compounds alteration among antenatal patients. **Med. Sci.**, v. 5, p. 24, 2017.

\_\_\_\_\_. European Association for the Study of the Liver; European Association for the Study of the Liver. EASL) clinical practice guidelines on the management of hepatitis B virus infection. **J. Hepatol.**, v. 67, p. 370-398, 2017.

\_\_\_\_\_. European Association for the Study of Liver clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. **J. Hepatol.**, v. 57, p. 399-420, 2012.

EVANS, R.M.; BARISH, G.D.; WANG, Y.X., PPARs and the complex journey to obesity. **Natures Medicine**. v. 10: 355-361, 2004.

FAHIM, F. A.; ESMAT, A. Y.; HASSAN, G. K.; ABDEL-BARY; A. Biochemical changes in patients with combined chronic schistosomiasis and viral hepatitis C infections. **Dis. Markers**, v. 16, p. 111–118, 2000.

FAN, J. G.; ZHU, J.; LI, X. J.; CHEN, L.; LU, Y.S.; LI, L. Fatty liver and the metabolic syndrome among Shanghai adults. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 20, p. 1825-1832, 2005.

FATTORI, J.; INDOLFO, N. C.; CAMPOS, J. C. L. O; VIDEIRA, N. B.; BRIDI, A. V.; DORATIOTO, T. R.; ASSIS, M. A.; FIGUEIRA, A. C. M. Investigation of Interactions between DNA and Nuclear Receptors: A Review of the Most Used Methods. *Nuclear Receptor Research*. v. 1, p. 1-20, 2014.

FANG, S.; YUAN, J.; SHI, Q.; XU, T.; FU, Y.; WU, Z, *et al.* Downregulation of UBC9 promotes apoptosis of activated human LX-2 hepatic stellate cells by suppressing the canonical NF- $\kappa$ B signaling pathway. **PLoS One**, v. 12, 2017.

FATTOVICH, G.; BORTOLOTTI, F.; DONATO, F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. **J. Hepatol.**, v. 48, p. 335-352, 2008.

FERREIRA, Lucas Lima *et al.* Perfil de pacientes em pré-operatório para transplante de fígado em hospital de ensino. **J. Health Sci Inst, São Paulo**, v. 3, n. 31, p. 84-87, 2013.

FIEL MI. Pathology of chronic hepatitis B and chronic hepatitis C. **Clin. Liver Dis.**, v. 14, p.555, 2010.

FIGLIE, N.B.; *et al.* The frequency of smoking and problem drinking among general hospital inpatients in Brazil using the AUDIT and Fagerstrom questionnaires. **São Paulo Med. J.**, v. 1185, p. 139-143, 2000.

FORYST-LUDWIG, A.; HARTGE, M.; CLEMENZ, M. *et al.* PPAR $\gamma$  activation attenuates T-lymphocyte-dependent inflammation of adipose tissue and development of insulin resistance in obese mice. **Cardiovasc. Diabetol.**, v. 9, p. 64, 2010.

FRACANZANI, A. L; VALENTI, L.; BUGIANESI, E. *et al.* Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: A role for insulin resistance and diabetes. **Hepatology**, v. 48, p. 792-798, 2008.

FREITAS, L. A. R. CC-2 Curso curto em patologia hepática. Cirrose hepática: vias etiopatogênicas e seus marcadores histológicos. Esteato-hepatites alcoólica e não alcoólica. **Congresso Brasileiro de Patologia**, Natal, 2005.

FRIEDMAN, S.; SCHIANO, T. Cirrhosis and its sequelae. In: Goldman L, Ausiello D, eds. *Cecil Textbook of Medicine*. **Philadelphia**. 22 ed., p. 936-44, 2004.

FUNG, J.; YUEN, M. F.; LAI, C. L. The role of steatosis in HBsAg sero-clearance for patients with chronic hepatitis B infection: fact or fiction? **Dig. Di. Sci.**, v. 58, p. 20-2, 2013.

FUNG, S. K.; LOK, A. S. F. Management of patients with hepatitis B virus-induced cirrhosis. **Journal of Hepatology**, v. 42, p. 54-64, 2005.

GANEM D, PRINCE AM. Hepatitis B virus infection Natural history and clinical consequences. **The New England Journal of Medicine**, v. 350; p. 1118-1129, 2004.

GARBACZ, W. G.; HUANG, J. T.; HIGGINS, L. G.; WAHLI, W.; PALMER, C. N. PPAR $\alpha$  Is Required for PPAR $\delta$  Action in Regulation of Body Weight and Hepatic Steatosis in Mice. **PPAR Research**, v. 2015, p. 1- 15, 2015.

GARCIA-TSAO, G.; FRIEDMAN, S.; IREDALE, J.; PINZANI, M. Now there are many stages where before there was one: In search of a pathophysiological classification of cirrhosis. **Hepatology**, v. 51, p. 1445–9, 2010.

GAUR, K.; SAKHUJA, P. Progressive familial intrahepatic cholestasis: A comprehensive review of a challenging liver disease. **Indian J. Pathol. Microbiol.**, v. 60, p. 2-7, 2017.

GAVRILOVA, O.; HALUZIK, M.; MATSUSUE, K.; CUTSON, J. J.; JOHNSON, L.; DIETZ KR, NICOL C. J. *et al.* Liver peroxisome proliferator-activated receptor gamma contributes to hepatic steatosis, triglyceride clearance, and regulation of body fat mass. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 34268–34276, 2003.

GHADIR, M. R.; RIAHIN, A. A.; HAVASPOUR, A.; NOORANIPOUR, M.; HABIB-INEJAD, A. A. The relationship between lipid profile and severity of liver damage in cirrhotic patients. **Hepat. Mon.**, v. 10, p. 285–288, 2010.

GILMORE, T. D. Introduction to NF- $\kappa$ B: players, pathways, perspectives *Biology*. **Oncogene**, v. 25, p. 6680–6684, 2006.

GINÈS, P.; CARDENAS, A.; ARROYO, V.; RODES, J. Management of cirrhosis and ascites. **N. Engl. J. Med.**, v. 350, p. 1646-54, 2004.

GINÈS, P.; GUEVARA, M. Hyponatremia in cirrhosis: Pathogenesis, clinical significance, and management. **Hepatology**, v. 48, p. 1002-1010, 2008.

GOBEL, T.; ERHARDT, A.; HERWIG, M.; POREMB, C.; BALDUS, S. E.; SAGIR, A. *et al.* High prevalence of significant liver fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis B patients with normal ALT in central Europe. **J. Medi. Virol.**, v. 83 6, p. 968-973, 2011.

GOLABI, P.; BUSH, H.; STEPANOVA, M. *et al.* Liver Transplantation LT for Cryptogenic Cirrhosis CC and Nonalcoholic Steatohepatitis NASH Cirrhosis. **Medicine Baltimore**, v. 97, p. 31, 2018.

GOPAL, D. V.; ROSEN, H. R. Abnormal findings on liver function tests. **Postgrad Med.**, v. 107 2, p. 100-14, 2000.

GOUDARZI, M.; KOGA, T.; KHOZOIE, C.; MAK, T. D.; KANG, B. H. *et al.* PPAR  $\beta/\delta$  modulates ethanol-induced hepatic effects by decreasing pyridoxal kinase activity. *Toxicology*, v. 311, p. 87–98, 2013.

GREEN, R. M.; FLAMM, S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. **Gastroenterology**, v. 123, p. 1367-84, 2002.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. **Annu Rev. Immunol.**, v. 29, p. 415-45, 2011.

GRIGORESCU, M.; CRISAN, D.; RADU, C.; GRIGORESCU, M. D.; SPARCHEZ, Z.; SERBAN, A. A novel pathophysiological-based panel of biomarkers for the diagnosis of nonalcoholic steatohepatitis. **J. Physiol. Pharmacol.**; v. 63, p. 347-353, 2012.

GRONEMEYER, H.; GUSTAFSSON, J. A.; LAUDET, V. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 3, p. 950-964, 2004.

GUEVARA, M.; BACCARO, M. E.; TORRE, A. *et al.* Hyponatremia is a risk factor of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: A prospective study with time-dependent lysis. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 104, p. 1382-1389, 2009.

GUNN, N. T.; SHIFFMAN, M. L. The Use of Liver Biopsy in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: When to Biopsy and in Whom. **Clin. Liver Dis.**, v. 22, p. 109–119, 2018.

GUPTE, A. A.; LIU, J. Z.; REN, Y. *et al.* “Rosiglitazone attenuates age- and diet-associated nonalcoholic steatohepatitis in male low-density lipoprotein receptor knockout mice,” **Hepatology**, vol. 52, p. 2001–2011, 2010.

GUSMÃO, D. F. H. O. Chalcona como Modelo de Estudo no Receptor Ativado por Proliferador Peroxisomal PPAR Mestrado **Universidade de Brasília**, Faculdade de Ciências da Saúde. Brasília, 2008.

HADZIYANNIS, S. J; VASSILOPOULOS, D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. **Hepatology**, v. 34, p. 617-624, 2001.

HAGSTROM, H. *et al.* Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. **J. Hepatol.**, v. 67, p. 1265–1273, 2017.

HALL, A. M.; SOUFI, N.; CHAMBERS, K. T.; CHEN Z.; SCHWEITZER, G. G., MCCOMMIS, K. S. *et al* Abrogating monoacylglycerol acyltransferase activity in liver improves glucose tolerance and hepatic insulin signaling in obese mice. **Diabetes**, v. 63, p. 2284–2296, 2014.

HANSEN, J. B.; ZHANG, H.; RASMUSSEN, T. H.; PETERSEN, R. K.; FLINDT, E. N.; KRISTIANSEN, K. Peroxisome proliferator-activated receptor delta PPARdelta mediated regulation of preadipocyte proliferation and gene expression is dependent on cAMP signaling. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 3175-3182, 2011.

HARRISON, S. A.; BACON, B. R. Relation of hemochromatosis with hepato- cellular carcinoma: epidemiology, natural history, pathophysiology, screening, treatment, and prevention. **Med. Clin. North Am.**, v. 89, p. 391-409, 2005.

HASHIMOTO, E.; TOKUSHIGE, K. Prevalence, gender, ethnic variations, and prognosis of NASH. **J. Gastroenterol.**, v. 46, p. 63–69, 2011.

HEIDELBAUGH, J. J.; BRUDERLY, M. Cirrhosis and chronic liver failure: part I. Diagnosis and evaluation. **Am Fam. Physician**, v. 74, p. 756-62, 2006.

HELENIUS, K.; YANG, Y.; ALASAARI, J.; MAKELA, T. P. Mat1 inhibits peroxisome proliferator-activated receptor gamma-mediated adipocyte differentiation. **Mol. Cell Biol.**, v. 29, p. 315–323, 2009.

HENRICKSEN, J. H.; SIEMSEN, O.; KRINTEL, J. J.; MALCHOW-MÜLLER, A.; BENDTSEN, F.; RING-LARSEN H. Dynamics of albumin in plasma and ascitic fluid in patients with cirrhosis. **J. Hepatol.**, v. 34, p. 53–60, 2001.

HERINGLAKE, S.; SCHÜTTE A.; FLEMMING, P. *et al.* Presumed cryptogenic liver disease in Germany: high prevalence of autoantibody- negative autoimmune hepatitis, low prevalence of NASH, no evidence for occult viral etiology. **Z. Gastroenterol.**, v. 23, p. 47:417, 2009.

HOCK, B. *et al.* Validity of carbohydrate-deficient transferrin (%CDT) gamma-glutamyltransferase gamma-GT and mean corpuscular erythrocyte volume MCV as biomarkers for chronic alcohol abuse: a study in patients with alcohol dependence and liver disorders of non- alcoholic and alcoholic origin. **Addiction**, v. 100, p.1477-86, 2005.

HOESEL, B.; SCHMID, J. A. The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. **Mol. Cancer.**, v. 12: p. 86, 2013.

HOFFMANN, A.; NATOLI, G.; GHOSH, G. Transcriptional regulation via the NF- $\kappa$ B signaling module. **Published in Oncogene**, v. 25, p. 6706–6716, 2006.

HOLLAND, W. L. *et al.* Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. **J. Clin. Invest.**, v. 121, p. 1858–1870, 2011.

HONARKAR Z.; ALAVIAN S. M., SAMIEI. S.; SAEEDFAR, K.; BALADAST, M. *et al.* Occult Hepatitis B as a Cause of Cryptogenic Cirrhosis. **Hepatitis Monthly**; v. 4, p. 155 -160, 2004.

HORIKE, N.; SAKODA, H.; KUSHIYAMA, A.; ONO, H.; FUJISHIRO, M.; KAMATA, H.; NISHIYAMA, K.; UCHIJIMA, Y.; KURIHARA, Y.; KURIHARA, H.; *et al.* AMP-activated protein kinase activation increases phosphorylation of glycogen synthase kinase 3 $\beta$  and thereby reduces cAMP-responsive element transcriptional activity and phosphoenolpyruvate carboxykinase C gene expression in the liver. **J. Biol. Chem.**, v. 283, p. 33902–33910, 2008.

HOU, Y.; GAO, J.; XU, H.; XU, Y.; ZHANG, Z.; XU, Q.; ZHANG, C. PPAR $\gamma$  E3 ubiquitin ligase regulates MUC1-C oncoprotein stability. **Oncogene**, v. 33, p. 5619-5625, 2014.

HOU, Y.; MOREAU, F.; CHADEE, K. PPAR $\gamma$  is an E3 ligase that induces the degradation of NF $\kappa$ B/p65. **Nat. Commun**; v. 3, p. 1300, 2012.

HSIEH, P. S.; HSIEH, Y. J. Impact of liver diseases on the development of type 2 diabetes mellitus. **World J. Gastroenterol.**, v. 17, p. 5240–5, 2011.

HSU, C. S., LIU, C. H.; WANG, C. C.; TSENG, T. C.; LIU, C. J.; CHEN, C. L., *et al.* Impact of hepatitis B virus infection on metabolic profiles and modifying factors. **J. Viral Hepat.**, v. 19, p. 48–57, 2012.

HU, J.; ZHANG, X.; GU, J.; YANG, M.; ZHANG, X.; ZHAO, H.; LI, L. Serum alkaline phosphatase levels as a simple and useful test in screening for significant fibrosis in

treatment-naive patients with hepatitis B e-antigen negative chronic hepatitis B Month **European J. of Gastroenterol. Hepatol.**, v. 31, p. 817-823, 2019.

HU, K. Q. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. **J. Viral Hepat.**, v. 9, p. 243-257, 2002.

HUANG, X.; HOLLINGER, F. B. Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: a systematic review. **J. Viral Hepat.**, v. 21, p. 153–162, 2014.

ISHAK, K.; BAPTISTA, A.; BIANCHI, L.; CALLEA, F.; DE GROOTE, J.; GUDAT, F. *et al.* Histological grading and staging of chronic hepatitis. **J. Hepatol.**, v. 22, p. 696–699, 1995.

ISSEMANN, I.; GREEN, S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. **Nature.**, v. 347, p. 645-50, 1990.

IWAKIRI, Y.; GROSZMANN, R. J. Vascular endothelial dysfunction in cirrhosis. **J. Hepatol.**, v. 46, p. 927–34, 2007.

IWAISAKOA, K.; HAIMERLA, M.; PAIKA, Y.; TAURAA, K. *et al.* Protection from liver fibrosis by a peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  agonist. **PNAS Early Editio**, v. 109, p. 1369-1376, 2012.

JIANG, Z. G; DE BOER, I. H.; MACKEY, R. H.; JENSEN, M. K.; LAI, M.; ROBSON, S. C.; TRACY, R.; KULLER, L. H.; MUKAMAL, K. J. Associations of insulin resistance, inflammation and liver synthetic function with very low-density lipoprotein: The Cardiovascular Health Study. **Metabolism.**, v. 65, p. 92-99, 2016.

JOHN, J A. Avaliação de pacientes com cirrose atendidos em nível ambulatorial. 2014. Dissertação Mestrado Curso de Medicina, Programa de Pós-graduação em Hepatologia, **Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, Porto Alegre, 2014.

JOO, E. J.; CHANG, Y.; YEOM, J. S.; CHO, Y. K.; RYU, S. Chronic hepatitis B virus infection and risk of dyslipidaemia: a cohort study. **J. Viral Hepat.**, v. 26, p. 162–9, 2019.

JOSHI-BARVE, S.; KIRPICH, I.; CAVE, M. C. *et al.* Alcoholic, nonalcoholic, and toxicant associated steatohepatitis: mechanistic similarities and differences. **Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 1, p. 356–67, 20015.

JULURI, R.; VUPPALANCHI, R.; OLSON, J.; UNALP, A.; VAN NATTA, M. L.; CUMMINGS, O. W.; TONASCIA, J.; CHALASANI, N. Generalizability of the nonalcoholic steatohepatitis Clinical Research Network histologic scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Gastroenterol.*, v. 45, p. 55–8, 2011.

JUN, T. W.; YEH, M.; YANG, J. D.; CHEN, V. L. *et al.* More advanced disease and worse survival in cryptogenic compared to viral hepatocellular carcinoma. **Liver Int.**, v. 38, p. 895-902, 2018.

KANG, K.; REILLY, S. M.; KARABACAK, V.; GANGL, M. R.; FITZGERALD, K.; HATANO, B.; LEE, C. H. Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPARdelta regulate macrophage polarization and insulin sensitivity. **Cell. Metab.**, v. 7, p. 485–495, 2008.



KANURI, G.; LADURNER, R.; SKIBOVSKAYA, J.; SPRUSS, A.; KÖNIGSRAIN-ER, A. *et al.* Expression of toll-like receptors 1-5 but not TLR 6-10 is elevated in livers of patients with non-alcoholic fatty liver disease. **Liver Int.**, v. 35, p.562-568, 2013.

KAO, J. H.; CHEN, P. J.; LAI, M. Y.; CHEN, D. S. Acute exacerbations of chronic hepatitis B are rarely associated with superinfection of hepatitis B virus. **Hepatology**, v. 34; p. 817-823, 2001.

KARA, M.; DOGRU, T.; GENÇ, H. *et al.* Neutrophil-to-lymphocyte ratio is not a predictor of liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 27, p. 1144-1148, 2015.

KATO, A.; EDWARDS, M. J.; LENTSCH, A. B. Gene deletion of NF- $\kappa$  B p50 does not alter the hepatic inflammatory response to ischemia/reperfusion. **J. Hepatol.**, v. 37, p. 48–55, 2001.

KARIV, R.; LESHNO, M.; BETH-OR, A.; STRUL, H.; BLENDIS, L.; KOKIA, E., *et al.* Reevaluation of serum alanine aminotransferase upper normal limit and its modulating factors in a large-scale population study. **Liver Int.**, v. 26, p. 445-450, 2006.

KERSTEN, S.; DESVERGNE, B.; WAHLI, W. Roles of PPARs in health & disease. **Nature**, v. 405, p. 421–424, 2000.

KIM, M. Y.; BAIK, S. K. Hyperdynamic circulation in patients with liver cirrhosis and portal hypertension. **Korean J Gastroenterol**; v. 54, p. 143-48, 2009.

KIM, W. R.; FLAMM, S. L.; DI BISCEGLIE, A. M.; BODENHEIMER, H. C. Serum activity of alanine aminotransferase ALT as an indicator of health and disease. **Hepatology**, v. 47, p. 1363–70, 2008.

KISHIMOTO, T. IL-6: from its discovery to clinical applications. **Int Immunol.**, v. 22, p. 347–352, 2010.

KLEIN, C.; WU STEFELD, T.; ASSMUS, U. *et al.* The IL-6-gp 130-STAT3 pathway in hepatocytes triggers liver protection in T cell-mediated liver injury. **J. Clin. Invest.**, v. 115, p. 860–869, 2005.

KLEINER, D. E.; BRUNT, E. M. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. **Semin. Liver Dis.**, v. 32, p. 3-13, 2012.

KLEINER, D. E.; BRUNT, E. M.; VAN NATTA, M.; BEHLING, C.; CONTOS, M. J. *et al.* Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 41, p. 1313-1321, 2005.

KNODELL, R. G.; ISHAK, K. G.; BLACK, W.C.; CHEN, T. S.; CRAIG, R.; KAPLOWITZ, N. *et al.* Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. **Hepatology**, v. 1; p. 431–435, 1981.

KODALI, V. P.; GORDON, S. C.; SILVERMAN, A. L. *et al.* Cryptogenic liver disease in the United States: Further evidence for non-A, non-B, and non-C hepatitis. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 89, p. 1836-1839, 1994.

KOMORI, M.; YUKI, N.; NAGAOKA, T.; YAMASHIRO, M.; MOCHIZUKI, K. *et al.* Long-term clinical impact of occult hepatitis B virus infection in chronic hepatitis B patients. **J. Hepatol.**, v. 35, p. 798-804, 2001.

KONONEN, J. *et al.* Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. **Nat. Med.**, v. 4, p. 844-7, 1998.

KOTA, B. P.; HUANG, T. H.; Roufogalis, B. D. An overview on biological mechanisms of PPARs, Pharmacol. **PPARs Res.**, v. 5 1, p. 85–94, 2005.

KOZIEL, M. J.; PETERS, M. G. Viral hepatitis in HIV infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 356, p. 1445-1454, 2007.

KRISTIANSEN, O. P.; MANDRUP-POULSEN, T. Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent? **Diabetes**, v. 54, p. 114-124, 2005.

KUMAR, R.; PRAKASH S.; CHHABRA, S.; SINGLA, V.; MADAN, K.; GUPTA, S. D.; PANDA, S. K., KHANAL, S.; ACHARYA, S. K. Association of pro- inflammatory cytokines, adipokines & oxidative stress with insulin resistance & non-alcoholic fatty liver disease. **Indian J Med Res.**, v. 136, p. 229-236, 2012.

KUROKAWA, T.; OHKOHCHI, N. Platelets in liver disease, cancer and regeneration. **World J. Gastroenterol**, v. 23, p. 3228-3239, 2017.

LAMMERS, W. J.; VAN BUUREN, H. R.; HIRSCHFIELD, G. M. *et al.* Levels of alkaline phosphatase and bilirubin are surrogate end points of outcomes of patients with primary biliary cirrhosis: an international follow-up study. **Gastroenterology**, v. 147, p. 1338–1349, 2014.

LAVANCHY D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treat, and current and emerging and control measures. **Journal of Viral hepatitis**, v. 11, p. 97-107, 2004.

LECLERCQ, I. A.; FARRELL, G. C.; SEMPOUX, C.; DELA PEÑA, A.; HORSMANS, Y. Curcumin inhibits NF- $\kappa$ B activation and reduces the severity of experimental steatohepatitis in mice. **J. Hepatol.**, v. 41, p. 926–934, 2004.

LEE, C.H.; OLSON, P.; HEVENER, A.; MEHL, I.; CHONG, L. W.; OLEFSKY, J. M. *et al.* PPARdelta regulates glucose metabolism and insulin sensitivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.**, v. 103, p. 3444-3449, 2006.

LEE, D. H.; HA, M. H.; KIM, J. H.; CHRISTIANI, D. C.; GROSS, M.; STEFFES, M.; BLOMHOFF, R.; JACOBS, D. R. “Gamma- glutamyltransferase and diabetes—a 4 year follow-up study”. **Diabetologia**, v. 46, p. 359–364, 2003.

LEFTON, H. B.; ROSA, A.; COHEN, M. Diagnosis and epidemiology of cirrhosis. **The Medical Clinics of the North America**, v. 93, p. 787-799, 2009.

LEITE, B. A.; MATTOS, A. A.; MATTOS, A. Z.; CORAL, G. P.; EVALDT, S. Risk factors for nonalcoholic steatohepatitis in cryptogenic cirrhosis. **Arq. Gastroenterol.**, v. 49, p. 245-249, 2012.

LESLIE W. A. G. A. technical review on osteoporosis in hepatic disorders. **Gastroenterology**, v. 125, p. 941-66, 2003.

LESMANA, L. A.; LESMANA, C. R.; PAKASI, L. S.; KRISNUHONI, E. Prevalence of hepatic steatosis in chronic hepatitis B patients and its association with disease severity. **Acta Med. Indones**, v. 44, p. 35-39, 2012.

LESURTEL, M.; CLAVIEN, P. A. Platelets: a new cell type in liver physiology. In: Dufour JF, Clavien PA. **Signaling Pathways in Liver Diseases.**, 2 edit., Berlin: Springer-Verlag, v. 7, p. 105-113, 2010.

LEVITT, D. G.; LEVITT, M. D. Human serum albumin homeostasis: a new look at the roles of synthesis, catabolism, renal and gastrointestinal excretion, and the clinical value of serum albumin measurements. **Int. J. Gen. Med.**, v. 9, p. 229-55, 2016.

LI, M. H.; CHEN, W.; WANG, L. L.; SUN, J. L.; ZHOU, L. *et al.* RLA8 - A new and highly effective quadruple PPARs- $\alpha/\gamma/\delta$  and GPR40 agonist to reverse nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Journal of Pharmac. and Experim. Therapeut.*, v. 369, p. 1-31, 2019.

LI, H.; CHEN, X.; YANG, Y.; HUANG, H. *et al.* Wogonin attenuates inflammation by activating PPAR- $\gamma$  in alcoholic liver disease. **International Immunopharmacology**, v. 50, p. 95-106, 2017.

LI, S. *et al.* Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis. **Proc. Natl Acad. Sci. U. S. A.**, v. 107, p. 3441-3446, 2010.

LIDA, V. H., SILVA, T. J. A.; SILVA, A. S. F.; SILVA, L. F. F.; ALVES, V. A. F. Cirrose hepática: aspectos morfológicos relacionados às suas possíveis complicações. Um estudo centrado em necropsias. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 41, p. 29-36, 2005.

LIEW, Z. H.; GOH, G. B.; HAO, Y.; CHANG, P. E.; TAN, C. K. Comparison of hepatocellular Carcinoma in patients with cryptogenic versus hepatitis B etiology: A study of 1079 cases over 3 decades. **Digestive dise. and sciences**, v. 64, p. 585-590, 2019.

LIM, Y. S.; KIM, W. R. The global impact of hepatic fibrosis and end-stage liver disease. **Clinics in Liver Disease**, v. 12, p. 733-746, 2008.

LIM, J. K.; GROSZMANN, R. J. Transient elastography for diagnosis of portal hypertension in liver cirrhosis: is there still a role for hepatic venous pressure gradient measurement? **Hepatology**, v. 45, p. 1087-1090, 2007.

LINDOR, K. D.; GERSHWIN, M. E.; POUPON, R. *et al.* Primary biliary cirrhosis. *Hepatology*, v. 50, p. 291–308, 2009.

LIU, Q.; LU, W.; YANG, C.; WANG, Y.; LI, W.; CHU, Y. *et al.* HBXIP activates the PPAR $\delta$ /NF- $\kappa$ B feedback loop resulting in cell proliferation. *Oncotarget*, v. 9, p. 404-417, 2018.

LIU, S.; HATANO, B.; ZHAO, M; YEN C.C.; KANG, K.; REILLY S. M. *et al.* Role of peroxisome proliferator-activated receptor  $\{\delta\}/\{\beta\}$  in hepatic metabolic regulation. *J. Biol. Chem.*, v. 286, p. 1237-47, 2011.

LOCATELLI, I.; SUTTI, S.; VACCHIANO, M.; BOZZOLA, C.; ALBANO, E. NF- $\kappa$ B1 deficiency stimulates the progression of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in mice by promoting NKT-cell-mediated responses. *Clinical Science*, v. 124, p. 279–287, 2013.

LOK, A. S. F.; MCMAHON, B. J. Chronic hepatitis B. *Hepatology*, v. 45, p. 507-539, 2007.

LOUVET, A.; MATHURIN, P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment, *Nature reviews, Gastroenterol. Hepatol.*, v. 12, p. 231–242, 2015.

LUDWIG, J.; VIGGIANO, T. R.; MCGILL, D. B. Nonalcoholic steatohepatitis. Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clinic. Proc.*, v. 55, p. 434-438, 1980.

MACHADO, M. V.; OLIVEIRE, A. G.; CORTEZ-PINTO, H. Hepatic steatosis B virus infected patients: meta-analysis of risk factors and comparison with hepatitis C infected patients. *J. Gastroenterol Hepatol.*, v. 26, p. 1361-1367, 2011.

MAHESHWARI, A.; THULUVATH, P. J. Cryptogenic cirrhosis and NAFLD: are they related? *Am. J. Gastroenterol.*, v. 101, p. 664-668, 2006.

MAHMOUD, A. A.; BAKIR, A. S.; SHABANA, S. S. Serum TGF- $\beta$ , Serum MMP-1, and HOMA-IR as non-invasive predictors of fibrosis in Egyptian patients with NAFLD. *Saudi J. Gastroenterol*, v. 18, p. 327-333, 2012.

MALIK, S. M.; DE VERA, M. E.; FONTES, P. Outcome after liver transplantation for NASH cirrhosis. *Am. J. Transplant.*, v. 9, p. 782, 2009.

MANN, J. P.; VALENTI, L.; SCORLETTI, E. *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease in children. *Semin Liver Dis.*, v.38, p. 1-13, 2018.

MANNAN, R.; MISRA, V.; MISRA, S. P. *et al.* A comparative evaluation of scoring systems for assessing necro-inflammatory activity and fibrosis in liver biopsies of patients with chronic viral hepatitis. *J. Clin. Diagn. Res.*, v. 8, p. 08–12., 2014.

MANOUSOU, P.; KALAMBOKIS, G.; GRILLO, F. *et al.* Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. *Liver Int.*, v. 31, p.730–9. 29, 2011.

MARENGO, A. *et al.* Progression and Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adults. *Clin. Liver Dis.*, v. 20, p. 313-324, 2016.

MARMUR., J.; BERGGUIST, A.; STAL, P. Liver transplantation of patients with cryptogenic cirrhosis: clinical characteristics and outcome. **Scand J Gastroenterol**, v. 45, p. 60-9, 2010.

MASON, J. E. STARKE, M. D.; VAN KIRK, M. D. Gamma-Glutamyl Transferase: A Novel Cardiovascular Risk BioMarker Preventive cardiol., v. 13; p. 36-41, 2009.

MATTHEWS, V. B.; ALLEN, T. L.; RISIS, S.; CHAN, M. H.; HENSTRIDGE, D. C., WATSON N. *et al.* Interleukin- 6-deficient mice develop hepatic inflammation and systemic insulin resistance. **Diabetologia**, v. 53, p. 2431-2441, 2010.

MAURO, P.; RENZE, B.; WOUTER, W. Enzymes. In: Tietz text book of clinical chemistry and molecular diagnostics. **Elsevier**, 4 edit., p. 604-616, 2006.

MCCAUGHAN, G. W: Liver transplantation in chronic hepatitis B and C. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 15, p. 172, 2000.

MCPHERSON, S.; HARDY, T.; HENDERSON, E.; BURT, A. D.; DAY, C. P.; ANSTEE, Q. M. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. **J. of hepatology.**, v. 62 5 p. 1148-55, 2015.

MEDINA-GOMEZ G, *et al.* PPAR $\gamma$ 2 prevents lipotoxicity by controlling adipose tissue expandability and peripheral lipid metabolism. **PLoS Genet.**, v. 3, p. 64, 2007.

MENG, H.; YOU, H.; YANG, Y.; ZHANG, Y. 4-Methylcoumarin-[5,6-g]-hesperetin attenuates inflammatory responses in alcoholic hepatitis through PPAR-y activation. **Toxicology**, v. 421, p. 9-21, 2019.

MIALICH, M. S; PENAFORTE, F. R. O; RABITO, E. I; JORDÃO JUNIOR, A. A; CHIARELLO, P. G. Determination of body composition by segmental bioelectrical impedance analysis: considerations and practical applications. **Rev. Chil. Nutr.** Santiago, v. 37, n. 3, 2010.

MICHALIK L, *et al.* International Union of Pharmacology. LXI Peroxisome proliferator-activated receptors. **Pharmacological reviews.**, v. 58, p. 726–741, 2006.

MICHALIK, L.; DESVERGNE, B.; DREYER, C.; GAVILLET, M. LAURINI, R.N.; WAHLI, W. PPAR expression and function during vertebrate development. **Int. J. Dev.Biol.**, v. 46, p. 105-114, 2002.

MIELI-VERGANI, G.; VERGANI, D.; BAUMANN, U. *et al.* Diagnosis and Management of Pediatric Autoimmune Liver Disease: ESPGHAN Hepatology Committee Position Statement. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.**, v. 66, p. 345-360, 2018.

MILLWARD-SADLER, G. H.; HANH, E. G.; WRIGHT, R. Cirrhosis: an appraisal. In: Wright R, Millward-Sadler GH, Alberti KGMM, Karran S, editors. Liver and biliary disease. 2 ed. London: Baillière **Tindall WB Saunders**, p. 821–860, 1995.

MOCARZEL, L. O.; ROSSI, M. M.; MILIOSSE, B. M.; LANZIRIE, P. G.; GISMONDI, R. A. Cirrhotic cardiomyopathy: a new clinical phenotype. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 108, p. 564-568, 2016.

MOFRAD, P.; CONTOS, M. J.; HAQUE, M. *et al.* Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. **Hepatology.**, v. 37, p. 1286-1292, 2003.

MOHAMMED, O. K.; MAHADEVA S. Clinical outcomes of cryptogenic compared with non-cryptogenic cirrhosis: A retrospective cohort study. **J. of Gastroenterology and Hepatology**, v. 30, p. 1423–1428, 2015.

MANOUSOU, P.; KALAMBOKIS, G.; GRILLO, F.; WATKINS, J. *et al.* Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. **Liver Int.**, v. 31, p. 730-739, 2012.

MONTANO-LOZA, A. J.; SHUMS, Z.; NORMAN, G. L.; CZAJA, A. J. Prognostic implications of antibodies to Ro/SSA and soluble liver antigen in type 1 autoimmune hepatitis. **Liver Int.**, v. 32, p. 85-92, 2012.

MORÁN-SALVADOR, E.; LÓPEZ-PARRA, M.; GARCÍA-ALONSO, V.; TITOS, E. *et al.* J. Role for PPAR $\gamma$  in obesity-induced hepatic steatosis as determined by hepatocyte- and macrophage-specific conditional knockouts. **FASEB J.**, v. 25, p. 2538–2550, 2011.

MOREAU, R.; JALAN, R.; GINES, P.; PAVESI, M.; ANGELI, P.; CORDOBA, J.; DURAND, F. *et al.* Study Investigators of the EASL-CLIF Consortium. Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis. **Gastroenterology**, v. 144, p. 1426-1437, 2013.

MOSCHEN, A. R.; WIESER, V.; TILG, H. Adiponectin: key player in the adipose tissue-liver crosstalk. **Curr. Med. Chem.**, v. 19, p. 5467-5473, 2012.

MUELLER, S.; ENGLERT, S.; SEITZ, H. K.; BADEA, R. I.; ERHARDT, A.; BOZAARI, B. *et al.* Inflammation-adapted liver stiffness values for improved fibrosis staging in patients with hepatitis C virus and alcoholic liver disease. **Liver Int.**, v. 35, p. 2514–2521, 2015.

MUHSEN, I. N.; ALFREIHI1, O.; ABAALKHAIL1, F. *et al.* Bone mineral density loss in patients with cirrhosis. **Saudi Journal of Gastroenterol.**, v. 24, p. 2018.

MUKAI, M.; OZASA, K.; HAYASHI, K.; KAWAI, K. Various S-GOT/S-GPT ratios in nonviral liver disorders and related physical conditions and lifestyle. **Dig. Dis. Sci.**, v. 47, p. 549–555, 2002.

NAGASAWA, T.; INADA, Y.; NAKANO, S. *et al.* Effects of bezafibrate, PPAR pan-agonist, and GW501516, PPAR $\delta$  agonist, on development of steatohepatitis in mice fed a methionine and choline deficient diet. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 536, p. 182–191, 2006.

NAGY, L. E. The Role of Innate Immunity in Alcoholic Liver Disease, **Alcohol Res.**, v. 37, p. 237–250, 2015.

NARKAR, V. A.; DOWNES, M.; YU, R. T.; EMBLER, E.; WANG, Y. X.; BANAYO, E.; MIHAYLOVA, M. M.; NELSON, M. C.; ZOU, Y.; JUGUILON, H.; *et al.* AMPK and PPARdelta agonists are exercise mimetics. **Cell**, v. 134, p. 405–415, 2008.

NAU, A. L.; SOARES J. C.; SHIOZAWA, M.; DANTAS-CORRÊA, E. B.; SCHIAVON, L.; NARCISO-SCHIAVON, J. L. Clinical and laboratory characteristics associated with dyslipidemia and liver steatosis in chronic HBV carriers. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 47, p. 158–164, 2014.

NEELS, J. G.; GRIMALDI, P. A. Physiological functions of peroxisome proliferator-activated receptor  $\beta$ . **Physiol. Rev.**, v. 94, p. 795–858, 2014.

NEIMARK, E.; SCHILSKY, M. L.; SHNEIDER, B. L. Wilson's disease and hemochromatosis. **Adolesc. Med. Clin.**, v. 15, p. 175-94, 2004.

NEUMAN, M. G.; LAWRENCE, COHEN, L. C.; NANAU, R. M. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease. **Can J. Gastroenterol Hepatol.**, v. 28, p. 607- 6018, 2014.

NEUSCHWANDER-TETRI, B. A.; CALDWELL, S. H. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. **Hepatology**, v. 37, p. 1202–1219, 2003.

NIJLAND, P. G; WITTE, M. E.; VAN HET HOF, B.; VAN DER POL, S.; BAUER, J., LASSMANN, H. *et al.* Astroglial PGC-1alpha increases mitochondrial antioxidant capacity and suppresses inflammation: implications for multiple sclerosis. **Acta Neuropathol Commun.**, v. 2, p. 1-13, 2014.

NISHIO, A.; KEEFFE, E.B.; ISHIBASHI, H.; GERSHWIN, E.M. Diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis. **Med. Sci. Monit.**, v. 6, p. 181–193, 2000.

ODEGAARD, J.; RICARDO-GONZALEZ, R.; GOFORTH, M. H. *et al.* Macrophage-specific PPARgamma; controls alternative activation and improves insulin resistance. **Nature**, v. 447, p. 1116–1120, 2007.

OAKLEY, F.; MANN, J.; NAILARD, S.; SMART, D. E.; MUNGALSINGH, N.; CONSTANDINO, C. *et al.* Nuclear factor- $\kappa$ B1 (p50) limits the inflammatory and fibrogenic responses to chronic injury. **Am. J. Pathol.**, v. 166, p. 695–708, 2005.

OLEFSKY, J. M. Nuclear receptor minireview series. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 36863-4, 2001.

ONG, J.; YOUNOSSI, Z. M.; REDDY, V. *et al.* Cryptogenic cirrhosis and posttransplantation nonalcoholic fatty liver disease. **Liver Transpl.**, v. 7, p. 797–801, 2001.

ORFILA, C.; LEPERT, J. C.; CARRERA, L. A. G.; BÉRAUD, M.; PIPY, B. Immunohistochemical distribution of activated nuclear factor  $\kappa$ B and peroxisome proliferator-activated receptors in carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats. **Histochem. Cell. Biol.**, v. 123, p. 585–593, 2005.

ORTEGA, E.; KOSKA, J.; SALBE, A. D. *et al.* Serum gamma-glutamyl transpeptidase is a determinant of insulin resistance independently of adiposity in Pima Indian children. **J. Clin. Endocrinol Metab.**, v. 91, p. 1419–1422, 2006.

OZER, J.; RATNER, M.; SHAW, M.; BAILEY, W.; SCHOMAKER, S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. **Toxicology**, v. 245, p. 194–205, 2008.

PACIFICO, L.; FERRARO, F.; BONCI, E.; ANANIA, C.; ROMAGGIOLI, S.; CHIESA, C. Upper limit of normal for alanine aminotransferase: quo vadis? **Chimica Acta.**, v. 422, p. 29–39, 2013.

PAIS, R.; RUSU, E.; ZILISTEANU, D.; CIRCIUMARU, A.; MICU, L. *et al.* Prevalence of steatosis and insulin resistance in patients with chronic hepatitis B compared with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver disease. **Europ. J. of Internal Medicine**, v. 26, p. 30–36, 2015.

PANASYUK, G.; ESPELLAC, C.; CHAUVIN, C.; PRADELLI, L. A. *et al.* PPAR $\gamma$  contributes to PKM2 and HK2 expression in fatty liver. **Nat. Commun.**, v. 3, p. 672, 2012.

PAPATHEODORIDIS, G. V.; DALEKOS, G. N.; YURDAYDIN, C. *et al.* Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in Caucasian chronic hepatitis B patients receiving entecavir or tenofovir. **J. of hepatol.**, v. 62, p. 363-70, 2015.

PARK, B. H.; YOON J. M.; KIM, J. H.; MOON, J. *et al.* Pathologic Impact of Insulin Resistance and Sensitivity on the Severity of Liver Histopathology in Pediatric Non-Alcoholic Steatohepatitis. **Yonsei Med. J.**, v. 58, p. 756-762, 2017.

PASCUAL, G.; FONG, A. L.; OGAWA, S. *et al.* A sumoylation-dependent pathway mediates transrepression of inflammatory response genes by PPAR-gamma. **Nature**, v. 437, p. 759-63, 2005.

PAWLAK, M.; BAUGÉ, E.; BOURGUET, W.; DE BOSSCHER, K.; LALLOYER, F.; TAILLEUX, A.; LEBHERZ, C.; LEFEBVRE, P.; STAELS, B. The transrepressive activity of peroxisome proliferator-activated receptor alpha is necessary and sufficient to prevent liver fibrosis in mice. **Hepatology**, v. 60, p. 1593-1606, 2014.

PERRILLO, R. P.; LAI, C. L.; LIAW, Y. F.; DIENSTAG, J. L.; SCHIFF, E. R. *et al.* Predictors of HBeAg loss after lamivudine treatment for chronic disease progression. **Hepatology hepatitis B. Hepatology**, v. 36, p.186-194, 2002.

PETERSEN, M. C; SHULMAN, G. I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. **Physiol Rev.**, v. 98, p. 2133–223, 2018.

PETTA, S.; MURATORE, C.; CRAXÌ, A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: The present and the future. **Dig. Liver Dis.**, v. 41, p. 615-625, 2009.

PETTINELLI, P., VIDELA, L. A. Up-regulation of PPAR-gamma mRNA expression in the liver of obese patients: an additional reinforcing lipogenic mechanism to SREBP-1c induction. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 96, p. 1424–1430, 2011.



PINZANI, M.; ROSSELLI, M.; FELLOW, R.; ZUCKERMANN, M.; SURGEON, C. Cirrhosis Liver. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 25, p. 281–290, 2011.

POLVANI, S.; TAROCCHI, M.; TEMPESTI, S.; GALLI, A. Nuclear receptors and pathogenesis of pancreatic cancer. **World J. Gastroenterol.**, v. 20, p. 12062-12081, 2014.

POONAWALA, A.; NAIR, S. P.; THULUVATH, P. J. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case-control study. **Hepatology**, v. 32, p. 689-692, 2000.

POULSEN, L.; SIERSBAEK, M.; MANDRUP, S. PPARs: fatty acid sensors controlling metabolism. **Semin. Cell Dev. Biol.**, v. 23, p. 631-9, 2012.

POWELL, E. E.; COOKSLEY, W. G.; HANSON, R. *et al.* The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. **Hepatology**, v. 11, p. 74–80, 1990.

POYNARD, T.; RATZIU, V.; NAVEAU, S.; THABUT, D.; CHARLOTTE, F.; MES-SOUS D. *et al.* The diagnostic value of biomarkers SteatoTest for the prediction of liver steatosis. **Comp. Hepatol.**, v. 4, p. 10, 2005.

POYNARD, T.; BEDOSSA, P.; OPOLON, P. for the OBSVIRC MCADg. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. **Lancet.**, v. 349, p. 825-832, 1997.

PRATI, D.; TAIOLI, E.; ZANELLA, A.; DELLA TORRE, E.; BUTELLI, S., DEL VECCHIO, E. *et al.* Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. **Ann Intern Med.**, v.137, p. 1-10, 2002.

PRATT, D. S.; KAPLAN, M. M. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N. Engl. J. Med.*, v. 342, p. 1266-1271, 2000.

PUGH, R. N.; MURRAY-LYON, I. M.; DAWSON, J. L. *et al.* Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. **The British journal of surgery.**, v. 60, p. 646–9, 1973.

PUOTI, M.; TORTI, C.; BRUNO, R.; FELICE, G.; CAROSI, G. Natural history of chronic hepatitis B in co-infected patients. **Journal of Hepatology**, v. 44, p. 65-70, 2006.

PUTRA, J.; SCHIANO, T. D.; FIEL, M. I. Histological Assessment of the Liver Explant in Transplanted HCV-Patients Achieving Sustained Virologic Response with Direct-Acting Antiviral Agents. **Histopat.**, v. 72, p. 990-996, 2018.

QI, S. W.; TU, Z. G.; PENG, W. J.; WANG, L. X.; OU-YANG, X.; CAI, A. J. H. NMR-based serum metabolic profiling in compensated and decompensated cirrhosis. **World J. Gastroenterol**, v. 18, p. 285-90, 2016.

QUETELET, L. A. J. Comparative statistics in the 19th century. Farnborough, United Kingdom: Gregg International Publishers; 1973. A treatise on man and the development of his faculties. **Edinburgh**, United Kingdom: William and Robert Chambers, 1973, p. 1835-1842.

RAHIMIAN, R.; MASIH-KHAN, E.; LO, M.; VAN BREEMEN, C.; MCMANUS, B. M.; DUBÉ, G. P. Hepatic over-expression of peroxisome proliferator activated receptor gamma2 in the ob/ob mouse model of non-insulin dependent diabetes mellitus. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 224, p. 29–37, 2001.

RAMOS, Y. F.; HESTAND, M. S.; VERLAAN, M. *et al.* Genome-wide assessment of differential roles for p300 and CBP in transcription regulation. **Nucleic Acids Res.**, v. 38, p. 5396-408, 2010.

RATZIU, V.; BELLENTANI, S.; CORTEZ-PINTO, H. *et al.* A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. **J. Hepatol.**, v. 53, p. 372–384, 2010.

RATZIU, V.; BONYHAY, L.; DI, M. *et al.* Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. **Hepatology.**, v. 35, p. 1485-1493, 2002.

REDDY, S. K.; STEEL, J. L.; CHEN, H. W.; DEMATEO, D. J.; CARDINAL, J.; BEHARI, J. *et al.* Outcomes of curative treatment for hepatocellular cancer in nonalcoholic steatohepatitis versus hepatitis C and alcoholic liver disease. **Hepatology.**, v. 55, p. 1809–19, 2012.

REGEV, A.; BERHO, M.; JEFFERS, L. J.; MILIKOWSKI, C. *et al.* Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 97, p. 2614-2618, 2002.

REID, A. E. Nonalcoholic steatohepatitis. **Gastroenterology**, v. 121, p. 710-723, 2001.

REILLY, S.M.; LEE, C. H. PPAR delta as a therapeutic target in metabolic disease. **FEBS Lett.**, v. 582, p. 26-31, 2008.

RIBEIRO, P. S.; CORTEZ-PINTO, H.; SOLA, S.; CASTRO, R. E.; RAMALHO, R. M. *et al.* Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF- $\kappa$ B in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 99, p. 1708–1717, 2004.

RICOTE, M.; GLASS, C. K. PPARs and molecular mechanisms of transrepression. **Biochim Biophys Acta.**, v. 1771, p. 926-35, 2007.

RIGANO D.; SIRIGNANO, C.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O. The potential of natural products for targeting PPAR $\alpha$ . **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 7, p. 427-438, 2017.

RISERUS, U.; SPRECHER, D.; JOHNSON, T.; OLSON, E.; HIRSCHBERG, S.; LIU, A. *et al.* Activation of peroxisome proliferator-activated receptor PPAR delta promotes reversal of multiple metabolic abnormalities, reduces oxidative stress, and increases fatty acid oxidation in moderately obese men. **Diabetes**, v. 57, p. 332-339, 2008.

RIVAL, Y.; BENÉTEAU, N.; TAILLANDIER, T.; PEZET, M.; DUPONT-PASSELAIGUE, E. *et al.* PPARalpha and PPARdelta activators inhibit cytokine-induced nuclear translocation of NF-kappaB and expression of VCAM-1 in EAhy endothelial cells. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 435, p. 143–151, 2002.

ROMICS, J. R. L.; KODYS, K.; DOLGANIUC, A.; GRAHAM, L.; VELAYUDHAM, A.; MANDREKAR, P.; SZABO, G. Diverse regulation of NF- $\kappa$ B and peroxisome proliferator-activated receptors in murine nonalcoholic fatty liver. **Hepatology**, v. 40, p. 376–385, 2004.

RORIZ, A. C. C.; OLIVEIRA, L. P. M.; BOULHOSA, R. S. S. B.; OLIVEIRA, T. M.; ARAUJO, A. S. Avaliação e diagnóstico nutricional das doenças crônicas do fígado. In: *Nutrição e hepatologia: Abordagem Terapêutica Clínica e Cirúrgica*. Ed. Rubio, p. 94-95, 2014.

ROSEN, E. D.; SPIEGELMAN, B. M. PPAR gamma: a nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. **J. Biol. Chem.**, v. 12; p. 37731-37734, 2001.

ROSENFELD, M. G.; LUNYAK, V. V.; GLASS, C. K. Sensors and signals: a coactivator/corepressor/epigenetic code for integrating signal-dependent programs of transcriptional response. **Genes Dev.**, v. 1, p. 1405-1428, 2006.

ROUILLARD, S; LANE N. Hepatic osteodystrophy. **J. Hepatol.**, v. 33, p. 301-7, 2001.

SABATINO, L.; CASAMASSIMI, A.; PELUSO, G.; BARONE, M. V.; CAPACCIO D. *et al.* A novel peroxisome proliferator-activated receptor gamma isoform with dominant negative activity generated by alternative splicing. **J. Biol. Chem.**, v. 280, p. 26517-26525, 2005.

SADLER, E. M; MEHTA, N.; BHAT, M.; GHANEKAR, A., *et al.* Liver transplantation for NASH-related hepatocellular carcinoma versus non-NASH etiologies of hepatocellular carcinoma. **Transplant. Publish Ahead of Print Transplant.**, v. 102, p. 640–647, 2018.

SAID, Z. N. An overview of occult hepatitis B virus infection. **World Journal of Gastroenterology**; v. 17, p. 1927–38, 2011.

SAITO T.; NISHISE, Y.; MAKINO, N.; HAGA, H.; ISHII, R.; OKUMOTO, K.; ITO, J. I. *et al.* Impact of metabolic syndrome on elevated serum alanine aminotransferase levels in the Japanese population. **Metabolism.**, v. 58, p. 1067-1075, 2009.

SAKHUJA P. Pathology of alcoholic liver disease, can it be differentiated from nonalcoholic steatohepatitis? **World J. Gastroenterol.**, v. 44, p. 16474-16479, 2014.

SAKUGAWA, H.; NAKASONE H.; NAKAYOSHI, T.; KAWAKAMI, Y. *et al.* Clinical characteristics of patients with cryptogenic liver cirrhosis in Okinawa, Japan. **Hepatogastroenterology.**, v. 50, p. 2005–2008, 2003.

SALVADÓ, L.; SERRANO-MARCO, L.; BARROSO, E.; PALOMER, X.; VÁZQUEZ-CARRERA, M. Targeting PPAR $\beta/\delta$  for the treatment of type 2 diabetes mellitus. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 16, p. 209-223, 2012.

SANDERSON, L. M.; BOEKSCHOTEN, M. V.; DESVERGNE, B.; MÜLLER, M.; KERSTEN, S. Transcriptional profiling reveals divergent roles of PPARalpha and PPARbeta/delta in regulation of gene expression in mouse liver. **Physiol. Genom.**, v. 41, p. 42–52, 2010.

SANYAL, A. J.; CAMPBELL-SARGENT, C.; MIRSHAHI, F.; RIZZO, W. B.; CONTOS, M. J.; STERLING, R. K. *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. **Gastroenterology**, v. 120, p. 1183-1192, 2001.

SAUNDERS, J. B.; WALTER, J. R. F.; DAVIES, P.; PATON, A. A 20-year prospective study of cirrhosis. **Br. Med. J.**, Edinburgh, v. 282, p. 262-266, 1981.

SCHAPER, F.; ROSE-JOHN, S. Interleukin-6: biology, signaling and strategies of blockade. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 26, p. 475-487, 2015.

SCHWABE, R. F.; SCHNABL, B.; KWEON, Y. O.; BRENNER, D. A. CD40 activates NF- $\kappa$ B and c-Jun N-terminal kinase and enhances chemokine secretion on activated human hepatic stellate cells. **J. Immunol.**, v. 166, p. 6812-6819, 2001.

SCHINDHELM, R. K. *et al.* Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. **Diabetes Metab. Res. Rev.**, v. 22, p. 437-443, 2006.

SCHNEGG, C. I.; KOOSHKI, M.; HSU, F. C.; SUI, G.; ROBBINS, M. E. PPAR $\delta$  prevents radiation-induced proinflammatory responses in microglia via transrepression of NF-kappaB and inhibition of the PKC $\alpha$ /MEK1/2/ERK1/2/AP-1 pathway. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 52, p. 1734-1743, 2012.

SCHRIER, R. W.; GROSS, P.; GHEORGHIADU, M. *et al.* Tolvaptan, a selective oral vasopressin V2-receptor antagonist, for hyponatremia. **N. Engl. J. Med.**, v. 355, p. 2099-2112, 2006.

SCHUPPAN, D.; AFDHAL, N. H. Liver cirrhosis. **Lancet.**, v. 371, p. 838-851, 2008.

SENDI, H.; MEAD, I. WAN, M.; MEHRAB- MOHSENI, M.; KOCH, K.; ATALA, A. *et al.* miR-122 inhibition in a human liver organoid model leads to liver inflammation, necrosis, steatofibrosis and dysregulated insulin signaling. **PLoS ONE**, v. 13, p. 1-17 2018.

SERRANO-MARCO, L; BARROSO, E.; EL KOCHAIRI, I. *et al.* The peroxisome proliferator-activated receptor PPAR  $\beta/\delta$  agonist GW501516 inhibits IL-6 induced signal transducer and activator of transcription 3 STAT3 activation and insulin resistance in human liver cells. **Diabetologia**, v. 55, p. 743-751, 2012.

SHAHINUL, A.; NOOR-E-ALAM, S. M. *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease patients of Bangladesh. **World J. Hepatol.**, v. 5, p. 281-287, 2013.

SHAN, W. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor-beta/delta protects against chemically induced liver toxicity in mice. **Hepatology**, v. 47, p. 225-235, 2008.

SHARMA, A. M; STAELS, B. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  and adipose tissue understanding obesity-related changes in regulation of lipid and glucose metabolism. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 92, p. 386-95, 2007.

SHEN, F.; YU-QIANG, M.; LIANG, X.; YONG-GANG, L. *et al.* Moderate to severe hepatic steatosis leads to overestimation of liver stiffness measurement in chronic hepatitis B patients without significant fibrosis. **Aliment Pharmacol Ther.**, v. 50, p. 93–102, 2019.

SHIM, J. J., KIM, J. W.; OH, C. H.; LEE, Y. R.; LEE, J. S.; PARK, S. Y., *et al.* Serum alanine aminotransferase level and liver-related mortality in patients with chronic hepatitis B: a large national cohort study. **Liver Int**, v. 38, p. 1751-1759, 2018.

SIDDIQUI, M. S.; HARRISON, S. A.; ABDELMALEK, M. F. *et al.* Case definitions for inclusion and analysis of endpoints in clinical trials for NASH through the lens of regulatory science. **Hepatology**, v. 67, p. 2001-2012, 2018.

SOARES, A. K.; SILVA, PEIXOTO, S. C. A. Role of peroxisome proliferator-activated receptors in non-alcoholic fatty liver disease inflammation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 75, p. 1-11, 2018.

\_\_\_\_\_. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC). IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da SBC. **Arq Bras Cardiol.**, v. 88, p. 2-19, 2007.

SOUZA-MELLO, V. Peroxisome proliferator-activated receptors as targets to treat non-alcoholic fatty liver disease. **World J. Hepatol.**, v. 7, p. 1012-1019, 2015.

STRUBEN, V. M.; HESPENHEIDE, E. E.; CALDWELL, S. H. Nonalcoholic steatohepatitis and cryptogenic cirrhosis within kindreds. **Am J Med.**, v. 108, p. 9-13, 2000.

SU, T. C.; LEE, Y. T.; CHENG, T. J.; CHIEN H. P.; WANG, J. D. Chronic hepatitis B virus infection and dyslipidemia. **J. Formos. Med. Assoc.**, v. 103, p. 286–91, 2004.

SUN, Y.; ZHOU, J.; WANG, L.; WU, X.; YONGPENG CHEN, Y. *et al.* New Classification of Liver Biopsy Assessment for Fibrosis in Chronic Hepatitis B Patients Before and After Treatment. **Hepatology**, v. 65, p. 1438-1450, 2017.

SUN, Z.; KLEIN, A. S.; RADAIEVA, S. *et al.* In vitro interleukin-6 treatment prevents mortality associated with fatty liver transplants in rats. **Gastroenterology**, v. 125, p. 202–215, 2003.

SUPPLI, M. P.; RIGBOLT, K. T. G.; VEIDAL, S. S. *et al.* Hepatic transcriptome signatures in patients with varying degrees of non- alcoholic fatty liver disease compared to healthy normal-weight individuals. **Liver and Biliary Tract. Physiol. Pathol.**, v. 316, p. 462-472, 2019.

SUTEDJA, D. S.; GOW, P. J.; HUBSCHER, S. G.; ELIAS, E. Revealing the cause of cryptogenic cirrhosis by posttransplant liver biopsy. **Transplant Proc.**, v. 36, p. 2334–7, 2004.

SUTHERLAND, N.; LI WAI SUEN, C. F. D. L. W. 1, MILLS, C. *et al.* Fibrosing Cholestatic Hepatitis-Like Syndrome in an Immunocompetent Patient With an Acute Flare of Chronic Hepatitis B. **Hepatology**, v. 70, 2019.

TAILLEUX, A.; WOUTERS, K.; STAELS, B. Roles of PPARs in NAFLD: potential therapeutic targets. **Biochim Biophys Acta.**, v. 1821, p. 809–818, 2012.

TAKAHASHI, Y.; FUKUSATO, T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. **World J. Gastroenterol.**, v. 20, p.15539-15548, 2014.

TAKAYAMA, O.; YAMAMOTO, H.; DAMDINSUREN, B.; SUGITA, Y.; NGAN, C. Y.; XU, X. *et al.* Expression of PPARdelta in multistage carcinogenesis of the colorectum: implications of malignant cancer morphology. **Br J. Cancer**, v. 95, p. 889–95, 2006.

TAN, Y., *et al.* Ductopenia and cirrhosis in a 32-year-old woman with progressive familial intrahepatic cholestasis type 3: A case report and review of the literature. **World J. of gastroenterology**, v. 24, p. 4716-4720, 2018.

TARANTINO, G.; CONCA, P.; PASANISI, F.; ARIELLO M *et al.* Could inflammatory markers help diagnose nonalcoholic steatohepatitis? **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 21, p. 504-511, 2013.

TARDU, A.; KARAGUL, S.; YAGCI, M. A.; ERTUGRUL, I.; SUMER, F. *et al.* Histopathological Examination of Explanted Liver After Transplantation in Patients With Cryptogenic Cirrhosis. **Transplantation Proceedings**, v. 47, p. 1450-1452, 2015.

TASNEEM, A. A.; NASIR HASSAN LUCK, N. H; MAJID, Z. Factors predicting non-alcoholic steatohepatitis NASH and advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease NAFLD **Tropical Doctor**, v. 48, p. 107–112, 2018.

TELLEZ-AVILA, F. I.; SANCHEZ-AVILA, F.; GARCIA-SAENZ-DE-SICILIA, M. *et al.* Prevalence of metabolic syndrome, obesity and diabetes type 2 in cryptogenic cirrhosis. **World J. Gastroenterol.**, v. 14, p. 4771–4775, 2008.

THAPA, B. R; ANUJ, W. Liver Function Tests and their Interpretation. **Indian J. Pedi.**; v. 74, p. 663- 671, 2007.

THULUVATH, P. J.; HANISH, S.; SAVVA, Y. Waiting List Mortality and Transplant Rates for NASH Cirrhosis When Compared With Cryptogenic, Alcoholic, or AIH Cirrhosis. **Transplantation**, v. 103, p. 113-121, 2019.

THULUVATH, P. J.; KANTSEVOY, S.; THULUVATH, A. J.; SAVVA, Y. Reply to: “NASH- related and cryptogenic cirrhosis similarities extend beyond cirrhosis”: Cryptogenic cirrhosis should not be equated with NASH cirrhosis based on UNOS data mining and Bayesian 'doctrine of chances. **J. Hepato.**, v. 69, p. 973-975, 2018.

TIAN, L.; WANG, Y.; XU, D.; GUI, J.; JIA, X.; TONG, H. *et al.* Serological AFP/golgi protein 73 could be a new diagnostic parameter of hepatic diseases. **Int. J. Cancer**, v. 129, p. 1923–31, 2011.

TOMARU, T.; STEGER, D. J.; LEFTEROVA, M. I.; SCHUPP; M.; LAZAR, M. A. Adipocyte-specific expression of murine resistin is mediated by synergism between peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  and CCAAT/enhancer-binding proteins. **J. Biol. Chem.**, v. 284, p. 6116–6125, 2009.

TONG, M.; LONGATO, L.; RAMIREZ, T.; ZABALA, V.; WANDS, J. R.; DE LA MONTE, S. M. Therapeutic reversal of chronic alcohol-related steatohepatitis with the ceramide inhibitor myriocin. **International J. of exper. pathol.**, v. 95, p. 49- 63, 2014.

TONTONOZ, P.; SPIEGELMAN, B. M. Fat and beyond: the diverse biology of PPAR $\gamma$ . **Annu. Rev. Biochem.**, v. 77, p. 289–312, 2008.

TOSHIKUNI, N.; TSUTSUMI, M.; ARISAWA, T. Clinical differences between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease. **World J. of gastroenterol.**, v. 26, p. 8393-8406, 2014.

TOWNSEND, S. A.; EDGAR, R. G.; ELLIS, P. R., *et al.* Systematic review: the natural history of alpha-1 antitrypsin deficiency, and associated liver disease. **Aliment Pharmacol Ther.**, v. 47, p. 877-885, 2018.

TRIPODI, A.; PRIMIGNANI, M.; CHANTARANGKUL, V.; DELL'ERA, A.; CLERICI, M.; DE FRANCHIS, R.; COLOMBO, M.; MANNUCCI, P. M. An imbalance of pro- vs anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. **Gastroenterology**, v. 137, p. 2105-2111, 2009.

TSOCHATZIS, E. A.; PAPATHEODORIDIS, G. V.; ARCHIMANDRITIS, A. J. Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: from pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. **Mediators of Inflammation**, v. 2009, p. 1-8, 2009.

TSUKAMOTO, H.; SHE, H.; HAZRA, S.; CHENG, J.; WANG, J. Fat paradox of steatohepatitis. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 23, p.104–107, 2008.

TYAGI, S.; GUPTA, P.;SAINI, A. S.; KAUSHAL, C.; SHARMA S. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear re- ceptors role in various diseases. **J. Adv. Pharm. Technol Res.**, v. 2, p. 236-240, 2011.

UNGER, L. W.; HERAC, M.; STAUFER, K.; SALAT, A. *et al.* The post-transplant course of patients undergoing liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis versus cryptogenic cirrhosis: a retrospective case–control study. **Europ. J. of Gastroenterol. Hepatol.**, v. 29, p. 309-316, 2017.

VALLABHAPURAPU, S.; KARIN, M. Regulation and function of NF- $\kappa$ B transcription factors in the immune system. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 27, p. 693–733, 2009.

VAN DEN BERGA, E. H.; DOUWES, A. R. M.; DE MEIJER, V. E.; SCHREUDER, C. M. A. T; BLOKZIJ, H. Liver transplantation for NASH cirrhosis is not performed at the expense of major post-operative morbidity. **Digestive and Liver Disease**, v. 50, p. 68-75, 2018.

VAN DER POORTEN, D.; SAMER, C. F.; RAMEZANI-MOGHAD, A. M. M. *et al.* Hepatic fat loss in advanced nonalcoholic steatohepatitis: are alterations in serum adiponectin the cause? **Hepatology**, v. 57, p. 2180–2188, 2013.

VAN DER WOERD, W. L.; HOUWEN, R. H.; VAN DE GRAAF, S. F. Current and future therapies for inherited cholestatic liver diseases. **World J Gastroenterol.**, v. 23, p. 763-775, 2017.

VANLEMMENS, C.; DI MARTINO, V.; MILAN, C.; MESSNER, M.; MINELLO, A. *et al.* Immediate Listing for Liver Transplantation Versus Standard Care for Child–Pugh Stage B Alcoholic Cirrhosis. **Ann Intern. Med.**, v. 150, p. 153-161, 2009.

VARGA, T.; CZIMMERER, Z.; NAGY, L. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1812, p. 1007–1022, 2011.

VÁZQUEZ-CARRERA, M. Unraveling the effects of PPAR  $\delta$  on insulin resistance and cardiovascular disease. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 27, p. 319-334, 2016.

VERE, C. C.; STREBA, C. T., STREBA, L.; ROGOVEANU, I. Lipid serum profile in patients with viral liver cirrhosis. **Med Princ Pract.**, v. 21, p. 566–568, 2012.

VERMA, S.; JENSEN, D.; HART, J. *et al.* Predictive value of ALT levels for non-alcoholic steatohepatitis NASH. **Liver Int.**, v. 33, p. 1398–405, 2013.

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. **MA Aliment Pharmacol Ther.**, v. 34, p. 274- 285, 2011.

VIDELA, L. A.; PETTINELLI, P. Misregulation of PPAR Functioning and Its Pathogenic Consequences Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Human Obesity. **PPAR Research**, v. 2012, p. 1-14, 2012.

VESPASIANI-GENTILUCCI, H.; GALLO, P.; PIEMONTE, F.; RIVA, E.; PORCARI, A.; VORINI, F. TOZZI, G. *et al.* Lysosomal Acid Lipase Activity Is Reduced Both in Cryptogenic Cirrhosis and in Cirrhosis of Known Etiology. **Plos one**, v. 11, p. 1-13, 2016.

VIEIRA, J. R. S; REIS, A. M. G; SILVA, A. V. S; JAIME, P. S. F. Avaliação da atividade enzimática de gama-glutamil-transferase em ex dependentes do álcool. **Rev. Brasileira de Análises Clínicas**, v. 42, p. 75 76, 2010.

VILSTRUP, H.; AMODIO, P.; BAJAJ, J.; CORDOBA, J.; FERENCI, P.; MULLEN, K. D.; WEISSENBORN, K. *et al.* Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. **Hepatology**, v. 60, p. 715-35, 2014.

VOS T. *et al.* Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet.**; v. 386, p. 743-800, 2015.

WAHLI, W.; MICHALIK, L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation. Trends Endocrinol. **Metab.**, v. 23, p. 351–363, 2012.



WANG, S. J.; YIN, S.; GU, W. Y.; ZHANG, Y.; LI, H. ACLF does exist in HBV-related decompensated cirrhotic patients **Article in J. of Digest. Diseases**, v. 19, p. 614-625, 2018.

WANG, J.; GUO, X.; WU, P.; SONG, J.; YE, C.; YU, S.; ZHANG, J.; DONG, W. Association between the Pro12Ala polymorphism of PPAR- $\gamma$  gene and the non-alcoholic fatty liver disease: a metaanalysis. **Gene**, v. 528, p. 328-334, 2013.

WANG, H. J.; Gao, B.; Zakhari, S.; Nagy, L. E. Inflammation in alcoholic liver disease, *Annu. Rev. Nutr.*, v. 32, p. 343–368, 2012a.

WANG, R.; YU, X. Y.; GUO, Z. Y.; WANG, Y. J.; WU, Y.; YUAN, Y. F. Inhibitory effects of salvianolic acid B on CCl<sub>4</sub> induced hepatic fibrosis through regulating NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$  signaling. **J. Ethnopharmacol.**, v. 144, p. 592-8, 2012b.

WANG, F. B.; ZHU, C. L.; LIU, X.; GAO, G. S. HBV inhibits apoB production via the suppression of MTP expression. **Lipids Health Dis.**, v. 10, p. 207, 2011.

WANG, C. C.; HSU, C. S.; LIU, C. J.; KAO, J. H.; CHEN, D. S. Association of chronic hepatitis B virus infection with insulin resistance and hepatic steatosis. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 23, p. 779-82, 2008.

WATANABE, S.; HASHIMOTO, E.; IKEJIMA, K. *et al.* Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. **J. Gastroenterol.**, v. 50, p. 364–377, 2015.

WEINMANN, A.; ALT, Y.; KOCH, S.; NELLES, C.; DÜBER, C. *et al.* Treatment and survival of non-alcoholic steatohepatitis associated hepatocellular carcinoma. **BMC Cancer**, v. 15, p. 1-9, 2015.

WESTERBACKA, J.; KOLAK, M.; KIVILUOTO, T.; ARKKILA, P.; SIRÉN, J.; HAMSTEN, A.; FISHER, R. M.; YKI-JARVINEN, H. Genes involved in fatty acid partitioning and binding, lipolysis, monocyte/macrophage recruitment, and inflammation are overexpressed in the human fatty liver of insulin-resistant subjects. **Diabetes**, v. 56, p. 2759–2765, 2005.

WESTERGAARD, M.; HENNINGSEN, J.; JOHANSEN, C.; RASMUSSEN, S. *et al.* Expression and localization of peroxisome proliferator-activated receptors and nuclear factor kappa B in normal and lesional psoriatic skin. **J Invest Dermatol.**, v. 121, p. 1104–1117, 2003.

WIECKOWSKA, A.; PAPOUCHADO, B. G.; LI, Z.; LOPEZ, R.; ZEIN, N. N.; FELDSTEIN, A. E. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. **Am J Gastroenterol.**; v. 103, p. 1372-1379, 2008.

WILLSON, T. M. *et al.* The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 43, p. 527-550, 2000. KOTA, B. P.; HUANG, T. H.; ROUFOGALIS, B. D. An overview on biological mechanisms of PPARs. **Pharmacological Research**, v. 51, n. 2, p. 85-94, 2005.

WILLSON, T. M.; LAMBERT, M. H.; KLIEWER, S. A. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  and metabolic disease. **Ann. Rev. Biochem.**, v. 70, p. 341–367, 2001.

WOLF GREENSTEIN, A.; MAJUMDAR, N.; YANG, P.; SUBBAIAH, P. V.; KINEMAN, R. D.; CORDOBA-CHACON, J. Hepatocyte-specific, PPAR $\gamma$ -regulated mechanisms to promote steatosis in adult mice. **J. Endocrinol.**, v. 232, p. 107–121, 2017.

WOLF, J.; ROSE-JOHN, S. GARBERS C. Interleukin-6 and its receptors: a highly regulated and dynamic system. *Cytokine*, v. 70, p. 11-20, 2014.

WONG, H. Y.; TAN, J. Y. L.; LIM, C. C. Abnormal liver function test in symptomatic pregnant patient: The local experience in Singapore. **Annals academy of Medicine**, v. 33, p. 204-208, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical status:** the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO expert committee. Geneva, WHO technical report series, 1995.

WREE, A.; BRODERICK, L.; CANBAY, A.; Hoffman, H. M.; Feldstein, A. E. From NAFLD to NASH to cirrhosis-new insights into disease mechanisms. **Nat. Rev. Gastroenterol Hepatol.**, v. 10, p. 627–36, 2013.

WRIGHT, T. M., VANDENBERG, A. M. Risperidone- and quetiapine- induced cholestasis. **Ann. Pharmacother.**, v. 41, p. 1518–1523, 2007.

WRIGHT, T. L. Introduction to chronic hepatitis B infection. **The Ame. J. of Gastroenterology**, v. 101, p. 1-6, 2006.

WU, F.; WANG, J.; PU, C.; QIAO, L.; JIANG, C. Wilson's disease: a comprehensive review of the molecular mechanisms. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 16, p. 6419-31, 2015.

XIANG, L.; JIA, L. S.; SHUO, H. W.; JING, W. Z.; YAN, Q. C. Learning to Diagnose Cirrhosis with Liver Capsule Guided Ultrasound Image Classification. **Sensors**, v. 17, p. 149, 2017.

XIÃO, G.; YE, Q; HAN, T.; YAN, J.; SUN, L.; WANG, F. Study of the sleep quality and psychological state of patients with hepatitis B liver cirrhosis. **Hepatology Research**, v. 48, p. 275–282, 2018.

XIÃO, L.; XIAN, J.; LI, Y.; GENG, A.; YANG, X.; HAN, L. *et al.* Parameters associated with significant liver histological changes in patients with chronic hepatitis B. **ISRN Gastroenterol**, v. 2014, p. 1-6, 2014.

XIE, Q. X.; XU, N.; JIANG, X. P.; ZHANG, Y. F.; ZHANG, Z. H., LI, J. B.; HU, X. Y; LI, X. [Role of FibroScan in liver fibrosis evaluation in patients with chronic hepatitis B virus infection and related influencing factors]. **Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi**, v. 24, p. 659-664, 2016.

XUE, R.; DONG, L.; WU, H.; LIU, T.; WANG, J.; SHEN, X. Gas chromatography/mass spectrometry screening of serum metabolomic biomarkers in hepatitis B virus infected cirrhosis patients. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 47, p. 305-310, 2009.

YALAMANCHILI, K.; SAADEH, S.; KLINTMALM, G. B.; JENNINGS, L. W.; DAVIS, G. L. Nonalcoholic Fatty Liver Disease After Liver Transplantation for Cryptogenic Cirrhosis or Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Liver transplantation**, v. 16, p. 431-439, 2010.

YANG, L.; HONG ZHANG, H.; ZHOU, Z.; HUI YAN, H.; ADELL, G.; SUN, X. Biological Function and Prognostic Significance of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\delta$  in Rectal Cancer. **Clin. Cancer Res.**, v. 17, p. 3760-70, 2011.

YAO-CHUN, H.; HSIU-J, H.; TENG-YU, L.; YEN-TSUNG, H., *et al.* Temporal Trend and Risk Determinants of Hepatocellular Carcinoma in Chronic Hepatitis B Patients on Entecavir or Tenofovir. **J. of Gastroenterol. and Hepatol.**, v. 33, p. 918-925, 2018.

YILMAZ, B.; KOKLU, S.; BUYUKBAYRAM, H.; YALÇIN, K.; KORKMAZ, U. *et al.* Chronic hepatitis B associated with hepatic steatosis, insulin resistance, necroinflammation and fibrosis. **African Health Sciences**, v. 15, p. 714-718, 2015.

YILMAZ, Y.; YOUNOSSI, Z. M. Obesity-associated nonalcoholic fatty liver disease. **Clin. Liver Dis.**, v. 18, p. 19-31, 2014.

YOON, YH; YI, H. Relatório de vigilância: mortalidade por cirrose hepática nos Estados Unidos. **Instituto Nacional de Abuso de Álcool e Alcoolismo**, v. 23, p. 1970-2009, 2012.

YOSHINAGA, M.; KITAMURA, Y.; CHAEN, T.; YAMASHITA, S.; TSURUTA, S.; HISANO, T. *et al.* The simultaneous expression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  and cyclooxygenase-2 may enhance angiogenesis and tumor venous invasion in tissues of colorectal cancers. **Dig. Dis. Sci.**, v. 54, p. 1108-14, 2009.

YOUNOSSI, Z.; ANSTEE, Q. M.; MARIETTI, M.; HARDY, T.; HENRY, L.; ESLAM, M. *et al.* Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. **Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 15, p. 11-20, 2018a.

YOUNOSSI, Z.; STEPANOVA, M.; SANYAL, A. J.; STEPHEN A. *et al.* The conundrum of cryptogenic cirrhosis: Adverse outcomes without treatment options. **Journal of Hepatol.**, v. 69, p. 1365-1370, 2018b.

YOUNOSSI, Z. M.; LOOMBA, R.; ANSTEE, Q. M.; RINELLA, M. E; BUGIANESI, E.; MARCHESINI, G. *et al.* Diagnostic Modalities for Non-alcoholic Fatty Liver Disease NAFLD Non-alcoholic Steatohepatitis NASH and associated fibrosis. **Hepatology**, v. 68, p. 349-390, 2017.

YUKSEL, E.; KBAL, A. E, KOCAK, E., KYUREK, A. O; KOKLU, S., K-IZ, E. F. Y.; ILMAZ, B. The relationship between visfatin, liver inflammation, and acute phase reactants in chronic viral hepatitis B. **Wien Klin Wochens.**, v. 128, p. 658-662, 2016.

YU-MING, W.; DAO-FENG, Y.; MING, W.; NAZIA, S. *et al.* Prognosis, Prevention and Research Prospects of Progression to Severe Hepatitis B. **Liver Failure Acute Exacerbation of Chronic Hepatitis B**, v. 14, p. 457-497, 2019.

ZAFRANI, E. S. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging pathological spectrum. **Virchows Arch.**, v. 444, p. 3-12, 2004.

ZAKHARI, S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? **Alcohol. Res. Health**, v. 29, p. 245–254, 2006.

ZAMIN, I. J.; MATTOS, A. A.; PERIN, C.; RAMOS, G. M. A Importância do índice AST/ALT no diagnóstico da esteatohepatite não-alcoólica. **Arq. Gastroenterol.**, v. 39, p. 1678-4219, 2002.

ZAREI, M.; BARROSO, E.; PALOMER, X.; DAI, J.; RADA, P.; QUESADA-LÓPEZ, T.; ESCOLÀ-GIL, J. C.; CEDÓ, L.; ZALI, M. R.; MOLAEI, M.; *et al.* Hepatic regulation of VLDL receptor by PPAR $\beta/\delta$  and FGF21 modulates non-alcoholic fatty liver disease. **Mol. Metab.**, v. 8, p. 117–131, 2018.

ZARRINPAR, A.; FALTERMEIER, C. M.; AGOPIAN, V. G.; NAINI, B. V. *et al.* Metabolic Factors Affecting Hepatocellular Carcinoma in Steatohepatitis. **Liver Int.**, v. 39, p. 531-539, 2019.

ZHANG, W.; XU, Y.; XU, Q.; SHI, H.; SHI, J.; HOU, Y. PPAR $\delta$  promotes tumor progression via activation of Glut1 and SLC1-A5 transcription. **Carcinogenesis**, v. 38, p. 748-755, 2017.

ZHANG, X.; ZHANG, H.; YE, L. Effects of hepatitis B virus X protein on the development of liver cancer. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 147, p. 58-66, 2006.

ZHONG, Z.; LEMASTERS, J. J. A unifying hypothesis linking hepatic adaptations for ethanol metabolism to the proinflammatory and profibrotic events of alcoholic liver disease. **Alcohol Clin. Exp. Res.**, v. 42, p. 2072-2089, 2018.

ZHOU, L.; LI, X.; HUANG, X.; CHEN, L.; GU, L.; HUANG, Y. Soluble programmed death-1 is a useful indicator for inflammatory and fibrosis severity in chronic hepatitis B. **J. Viral Hepat.**, v. 26, p. 795–802, 2019.

ZHU, C.; ZHU, H.; SONG, H.; XU, L.; LI, L.; LIU, F.; LIU, X. Hepatitis B virus inhibits the in vivo and in vitro synthesis and secretion of apolipoprotein C3. **Lipids Health Dis.**, v. 16, p. 213, 2017.

ZHU, J. Y.; HAN, Y. Autoimmune hepatitis: unveiling faces. **J. Dig. Dis.**, v. 16, p. 483-488, 2015.

ZOCCO, M. A.; DI STASIO, E.; DE CRISTOFARO, R.; NOVI, M.; AINORA, M. E. *et al.* Thrombotic risk factors in patients with liver cirrhosis: Correlation with MELD scoring system and portal vein thrombosis development. **J. Hepatol.**, v. 51, p. 682-689, 2009.

# APÊNDICE

**APÊNDICE A – PRINCÍPIOS DOS TESTES LABORATORIAIS E VALORES DE REFERÊNCIAS**

| <b>Exames</b>               | <b>Método utilizado</b>  | <b>Valores de referência</b> |                       |
|-----------------------------|--|------------------------------|-----------------------|
|                             |  | <b>Homens</b>                | <b>Mulheres</b>       |
| <b>Ureia</b>                | Ensaio Enzimático / WIENER CMD 800i<br>Ensaio cinético / ROCHA-COBAS C501                          | 16,6 - 48,5<br>mg/dL         | 16,6 - 48,5<br>mg/dL  |
| <b>Creatinina</b>           | Ensaio colorimétrico/WIENER CMD 800i<br>Ensaio colorimétrico cinético/ Jaffé / ROCHE-COBAS C501    | 0,7 - 1,3<br>mg/dL           | 0,6 - 1,2<br>mg/dL    |
| <b>Albumina</b>             | Ensaio colorimétrico/WIENER CMD 800i   | 3,5 - 4,8 g/dL               | 3,5 - 4,8 g/dL        |
| <b>Proteínas Totais</b>     | Ensaio colorimétrico/WIENER CMD 800i   | 6,1 - 7,9 g/dL               | 6,1 - 7,9 g/dL        |
| <b>Globulina</b>            | Ensaio colorimétrico/WIENER CMD 800i   | 1,2 - 2,2 g/dL               | 1,2 - 2,2 g/dL        |
| <b>Fosfatase Alcalina</b>   | Ensaio colorimétrico/ROCHE- COBAS C501   | 60 - 300 U/L                 | 60 - 300 U/L          |
| <b>ALT/TGP</b>              | Ensaio enzimático/WIENER CMD 800i<br>Ensaio colorimétrico/ROCHE- COBAS C501                        | 07-52 U/L                    | 07-52 U/L             |
| <b>AST/TGO</b>              | Ensaio cinético/WIENER CMD 800i<br>Ensaio colorimétrico/ROCHE- COBAS C501                          | 13- 40 U/L                   | 13- 40 U/L            |
| <b>GGT</b>                  | Ensaio cinético/WIENER CMD 800i<br>Ensaio colorimétrico Enzimático / ROCHE-COBAS C501              | 8-61 U/L                     | 5-36 U/L              |
| <b>Bilirrubina Total</b>    | Ensaio colorimétrico/WIENER CMD 800i<br>Ensaio colorimétrico/ROCHE- COBAS C501                     | Até 1,2 mg/dL                | Até 1,2 mg/dL         |
| <b>Bilirrubina Direta</b>   | Ensaio colorimétrico/WIENER CMD 800i<br>Método Diazo/ROCHE- COBAS C501                             | < 0, 2 mg/dL                 | < 0, 2 mg/dL          |
| <b>Bilirrubina Indireta</b> | Ensaio colorimétrico/WIENER CMD 800i<br>Ensaio colorimétrico/ROCHE- COBAS C501                     | 0,1 a 0,8<br>mg/dL           | 0,1 a 0,8<br>mg/dL    |
| <b>Glicemia</b>             | Ensaio Enzimático / WIENER CMD 800i  | 70 - 99 mg/dL                | 70 - 99 mg/dL         |
| <b>Cálcio Iônico</b>        | Eletrodo Íon-Seletivo//WIENER CMD 800i   | 1.10 - 1.35<br>mmol/L        | 1.10 - 1.35<br>mmol/L |
| <b>Sódio</b>                | Eletrodo Íon-Seletivo//WIENER CMD 800i<br>Biosensor ISE / ROCHE-COBAS C501                         | 134 - 149<br>mmol/L          | 134 - 149<br>mmol/L   |
| <b>Potássio</b>             | Eletrodo Íon-Seletivo//WIENER CMD 800i<br>Biosensor ISE / ROCHE-COBAS C501                         | 3,6 - 5,5<br>mmol/L          | 3,6 - 5,5<br>mmol/L   |
| <b>Magnésio</b>             | Ensaio colorimétrico/WIENER CMD 800i<br>Ensaio colorimétrico Clorofosfonazo III / ROCHE-COBAS C501 | 1,9 - 2,7<br>mg/dL           | 1,9 - 2,7<br>mg/dL    |

|   |   |   |   |
|---|---|---|---|
| <b>Cloro</b>                            | Eletrodo Íon-<br>Seletivo//WIENER CMD<br>800i   | 97,0 – 99 mEq/L   | 97,0 – 99 mEq/L   |
| <b>Cálcio<br/>Total</b>                 | Ensaio<br>colorimétrico//WIENER<br>CMD 800i<br>Complexação com O-<br>Cresolftaleína/ ROCHE-<br>COBAS C501 | 8,5 - 10,5 mg/dL  | 8,5 - 10,5 mg/dL  |
| <b>Colesterol<br/>Total</b>             | Ensaio Enzimático /<br>WIENER CMD 800i  | Normal: < 200 mg/dL;<br>Limitrofe: 200 – 239 mg/dL;<br>Elevado: > 240 mg/dL | < 200 mg/dL   |
| <b>HDL</b>                              | Ensaio<br>colorimétrico//WIENER<br>CMD 800i   | 40 - 70 mg/dL   | 40 - 85 mg/dL   |
| <b>LDL</b>                              | Equação de Friedewald /<br>WIENER CMD 800i  | < 129 mg/dL   | < 129 mg/dL   |
| <b>VLDL</b>                             | Equação de Friedewald /<br>WIENER CMD 800i  | < 40 mg/dL  | < 40 mg/dL  |
| <b>Triglicerí<br/>deos</b>              | Ensaio Enzimático /<br>WIENER CMD 800i  | < 150mg/dL  | < 150 mg/dL   |
| <b>Proteína<br/>C Reativa<br/>(PCR)</b> | Ensaio imunoturbimétrico /<br>ROCHE-COBAS C501  | <0,5mg/dL   | <0,5mg/dl   |
| <b>PPD2 U</b>                           | Reação de Mantoux   | NR: < 5,0 mm; Reator fraco:<br>≥ 5,0 mm; Reator forte: ≥ 10<br>mm           | NR: < 5,0 mm; Reator<br>fraco: ≥ 5,0 mm; Reator<br>forte: ≥ 10 mm     |
| <b>ANTI-<br/>HIV 1 e 2</b>              | Quimioluminescência por<br>Micropartículas<br>ARCHITECT- ABBOTT   | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00<br>S/CO  | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00<br>S/CO                                    |
| <b>Toxoplas<br/>mose<br/>(IgG)</b>      | Quimioluminescência por<br>Micropartículas<br>ARCHITECT- ABBOTT   | NR: <1,0 UI/mL; Zona cinza:<br>1, - 3,0 UI/mL; R: ≥ 3,0<br>UI/mL            | NR: <1,0 UI/mL; Zona<br>cinza: 1, - 3,0 UI/mL; R: ≥<br>3,0 UI/mL      |
| <b>Toxoplas<br/>mose<br/>(IgM)</b>      | Quimioluminescência por<br>Micropartículas<br>ARCHITECT- ABBOTT   | NR: <0,50 UI/mL; Zona<br>cinza: 0,50 - 0,60 UI/mL; R: ≥<br>0,60 UI/mL       | NR: <0,50 UI/mL; Zona<br>cinza: 0,50 - 0,60 UI/mL;<br>R: ≥ 0,60 UI/mL |
| <b>Citomegal<br/>ovírus<br/>(IgG)</b>   | Eletroquimiolumonescência<br>a- ELECSYS/ROCHE   | NR: < 6,0 AU/mL; Reagente<br>(R): ≥ 6,0 AU/mL                               | NR: < 6,0 AU/mL;<br>Reagente (R): ≥ 6,0 AU/mL                         |
| <b>Citomegal<br/>ovírus<br/>(IgM)</b>   | Eletroquimiolumonescência<br>a- ELECSYS/ROCHE   | NR: < 0,85 INDEX; Zona<br>cinza: 0,85 - 0,99 INDEX; R:<br>≥ 1,0 UI/mL       | NR: < 0,85 INDEX; Zona<br>cinza: 0,85 - 0,99 INDEX;<br>R: ≥ 1,0 UI/mL |

|  |   |   |   |
|--|---|---|---|
| <b>ANTI-HVA (IgG)</b>                          | Quimioluminescência por Micropartículas - ARCHITECT- ABBOTT | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00 S/CO                                     | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00 S/CO                                     |
|  | Eletroquimioluminescência- ELECSYS/ROCHE                    | NR: < 0,80 S/CO; Zona cinza: 0,80 – 1,20 S/CO INDEX; R: ≥ 1,20 S/CO | NR: < 0,80 S/CO; Zona cinza: 0,80 – 1,20 S/CO INDEX; R: ≥ 1,20 S/CO |
| <b>HBsAg</b>                                   | Eletroquimioluminescência- ELECSYS/ROCHE                    | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00 S/CO                                     | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00 S/CO                                     |
| <b>ANTI-HBSAG</b>                              | Quimioluminescência por Micropartículas ARCHITECT- ABBOTT   | NR: < 10,0 mUI/mL; R: ≥ 10,0 mUI/mL                                 | NR: < 10,0 mUI/mL; R: ≥ 10,0 mUI/mL                                 |
| <b>ANTI-HBC (IgG)</b>                          | Enzima Imuensaio de Micropartículas (MEIA) ABBOTT           | Não reagente  | Não reagente  |
| <b>ANTI-HBC (IgM)</b>                          | Eletroquimioluminescência- ELECSYS/ROCHE                    | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00 S/CO                                     | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00 S/CO                                     |
| <b>VDRL</b>                                    | Floculação  | Não reagente  | Não reagente  |
| <b>ANTI-HVC</b>                                | Quimioluminescência por Micropartículas - ARCHITECT- ABBOTT | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00 S/CO                                     | NR: < 1,00 S/CO; R: ≥ 1,00 S/CO                                     |
| <b>Sorologia para Chagas</b>                   | Hemaglutinação indireta                                     | Não reagente  | Não reagente  |
| <b>Tempo de Tromboplastin a Parcial (TTPA)</b> | Automação ACLTOP500   | ≤ 1.3   | ≤ 1.3   |
| <b>Tempo de Protrombina (TAP)</b>              | Automação ACLTOP500   | Atividade ≥ 70% INR ≤ 1.2   | Atividade ≥ 70% INR ≤ 1.2   |
| <b>Hematócrito</b>                             | Automação CELL- DYN 3700 - 3200                             | 40.0 a 54.0%  | 40.0 a 54.0%  |
| <b>Hemoglobina</b>                             | Automação CELL- DYN 3700 - 3200                             | 13.5 a 18.0 g/dL  | 13.5 a 18.0 g/dL  |
| <b>Fibrinogênio</b>                            | Automação ACLTOP500   | 180 - 350 mg/dL   | 180 - 350 mg/dL   |
| <b>Contagem de plaquetas</b>                   | Automação CELL- DYN 3700 - 3200                             | 150.000 a 500.000mm <sup>3</sup>                                    | 150.000 a 500.000mm <sup>3</sup>                                    |



|                   |  |  |   |
|-------------------|--|--|---|
| <b>Hemograma</b>  | Automação CELL-DYN 3700 - 3200         | Hemácias: 4.5 a 6.5 milhões/<br>mm <sup>3</sup><br>Hemoglobina: 13.5 a 18.0 g/dl<br><br>Hematócrito: 40.0 a 54.0 %<br>VCM: 80 a 96 fl<br>HCM: 27 a 32 pg<br>CHCM: 32 a 36 g/dl<br>RDW: 11.5 a 15%  | Hemácias: 4.0 a 5.5<br>milhões/ mm <sup>3</sup><br>Hemoglobina: 11.5 a 15.5<br>g/dL<br>Hematócrito: 36.0 a 45.0 %<br>VCM: 80 a 96 fl<br>HCM: 27 a 32 pg<br>CHCM: 32 a 36 g/dl<br>RDW: 11.5 a 15%  |
|                   |  | Neutrófilos: 40 - 75% (1.00 -<br>7.500 ul)<br>Mieloblastos, promielócitos,<br>mielócitos: 0<br>Batões: 0 - 5 (0 - 100 ul)<br>Segmentados: 45 - 75 (1.600 -<br>7.500 ul)<br>Linfócitos: 20 - 45 (800 - 4.500<br>ul)<br>Monócitos: 2 - 10 (80 - 1.000<br>ul)<br>Eosinófilos: 1 a 6 (40 - 600)<br>Basófilos: 0 a 1.5 (0 - 150 ul)<br>Plasmócitos, prolinfócitos e<br>blastos: 0 | Neutrófilos: 40 - 75% (1.00<br>- 7.500 ul)<br>Mieloblastos,<br>promielócitos, mielócitos: 0<br>Batões: 0 - 5 (0 - 100 ul)<br>Segmentados: 45 - 75<br>(1.600 - 7.500 ul)<br>Linfócitos: 20 - 45 (800 -<br>4.500 ul)<br>Monócitos: 2 - 10 (80 -<br>1.000 ul)<br>Eosinófilos: 1 - 6 (40 - 600)<br>Basófilos: 0 - 1.5 (0 - 150<br>ul)<br>Plasmócitos, prolinfócitos e<br>blastos: 0 |
| <b>Gasometria</b> | Automatizado / Rapid<br>Systems - 1265 | pH: 7,35 - 7,45<br>PCO <sub>2</sub> : 35 - 45 mm.Hg<br>PO <sub>2</sub> : 00 - 97 mm.Hg<br>O <sub>2</sub> st(saturação): 96 - 97%<br>HCO <sub>3</sub> : 22 - 26 mmol/L<br>TCO <sub>2</sub> : 23 - 27 mmol/L<br>BE: -2 - +2 mmol/L<br>HCO <sub>3</sub> -st: 22 - 26 mmol/L<br>LAC: 0,5 - 2,2 mmol/L  | pH: 7,35 - 7,45<br>PCO <sub>2</sub> : 35 - 45 mm.Hg<br>PO <sub>2</sub> : 00 - 97 mm.Hg<br>O <sub>2</sub> st(saturação): 96 - 97%<br>HCO <sub>3</sub> : 22 - 26 mmol/L<br>TCO <sub>2</sub> : 23 - 27 mmol/L<br>BE: -2 - +2 mmol/L<br>HCO <sub>3</sub> -st: 22 - 26 mmol/L<br>LAC: 0,5 - 2,2 mmol/L   |

**APÊNDICE B – INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO HISTÓLOGICA (ESCORES DE  
ISHAK, BRUNT E NAS)**

**Dados: Identificação do paciente**

**Número do bloco:** \_\_\_\_\_

**Linha (L1, L2, L3, L4, L5):** \_\_\_\_\_

**Amostra (1, 2, 3, 4, 5 e 6):** \_\_\_\_\_

**A - Avaliação Hepatite crônica - classificação de Ishak**

**1) Alterações estruturais - Fibrose portal**

0 (ausente)

1 (discreta, sem formação de septos)

2 (com septos porta-porta)

3 (com septos porta-porta e porta-centro, esboçando formação de nódulos – em “transformação nodular”)

4 (cirrose)

**2) Alterações necroinflamatória - Inflamação portal/septal**

0 (ausente ou raros)

1 (leve, focal com poucas áreas portal)

2 (Leve/moderada, focal com a maioria das áreas portal)

3 (Moderado, com <50% dos setores ou septos)

4 (Grave, com >50% dos setores ou septos)

**- Necrose confluyente**

0 (ausente)

1 (necrose confluyente foca)

2 (necrose de zona 3 em algumas áreas)

3 (necrose de zona 3 na maioria das áreas)

4 (necrose de zona 3 + ponte portal-central ocasional)

5 (necrose de zona 3 + ponte portal-central múltipla)

6 (necrose confluyente pan-acinar ou multiacinar)

**- Necrose lítica focal (irregular), apoptose e inflamação focal**

0 (ausente)

1 (um foco ou menos – objetiva 10x)

2 (dois a quatro focos – objetiva 10x)

3 (cinco a dez focos – objetiva 10x)

4 mais de dez focos – objetiva 10x)

**- Inflamação portal**

0 (ausente)

1 (leve, algumas áreas ou todas as áreas do portal)

2 (Moderada, algumas áreas ou todas as áreas do portal)

3 (Moderada/marcada em todas as áreas do portal)

4 (Marcado, todas as áreas do portal)

**- Evidências histológicas de associação com outras condições**

siderose grau \_\_\_\_\_

outros: \_\_\_\_\_

OBS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**B - Avaliação da presença de esteatose associada à balonização hepatocitária e/ou infiltrado inflamatório de acordo com a classificação de Brunt.**

**- Esteatose**

0 (ausente)

1 (Até 33% dos ácinos, principalmente macrovesiculares)

2 (Entre 34-66% dos ácinos, comumente esteatose mista)

3 (Mais de 66% dos ácinos (panacinar), comumente esteatose mista)

**- Balonização hepatocelular**

0 (ausente)

1 (Ocasional na zona III)

2 (Óbvio na zona III)

3 (Marcado, predominantemente na zona III)

**- Inflamação lobular**

0 (ausente)

1 (Neutrófilos dispersos, células mononucleares ocasionais)

2 ( 1 ou 2 focos – objetiva 20x)

3 (Neutrófilos associados a hepatócitos em balão, leve)

4 (inflamação crônica, 3 ou 4 focos - objetiva 20x)

5 (Inflamação aguda e crônica, os neutrófilos podem se concentrar)

6 (zona III, mais de 4 focos – 20x objetiva)

**- Inflamação portal**

0 (ausente)

1 (Leve, algumas áreas do portal)

2 ( Leve a moderada, a maioria das áreas do portal)

3 (Moderada a severa, a maioria das áreas do portal)

**- Estágio**

0 (Sem fibrose)

1 (Fibrose perivenular, perisinusoidal (pericelular) da zona III)

2 ( Alterações do estágio 1 + fibrose periportal)

3 (Fibrose em ponte)

4 (Cirrose)

OBS:

---



---



---



---

**C - Definição e escores de acordo com “NASH Clinical Research Network Scoring System” Sistema de Pontuação.**

**1) Grau de esteatose- Esteatose: Avaliação de baixa a média potência do comprometimento parenquimatoso por esteatose**

0 (<5%)

1 (5 – 33%)

2 ( 33-66%)

3 (>66%)

**- Localização: Padrão de distribuição predominante**

0 (zona 3)

1 ( zona 1)

2 ( azonal)

3 (pan-acinar)

**- Esteatose microvesicular: manchas contíguas**

0 (ausente)       1 ( presente)

**- Estágio de fibrose**

0 ( ausente)

1 (Perisinusoidal ou periportal)

- 2 (Suave, zona 3, perisinusoidal)       3 (Moderado, zona 3, perisinusoidal)  
 4 (Portal/perportal)                       5 (Perisinusoidal e portal/perportal)  
 6 (Pontes de Fibrose)                       7 (Cirrose)

## 2) Inflamação - Avaliação global de todos os focos inflamatórios

### - Inflamação lobular

- 0 ( sem foco)                       1 (<2 focos por campo de 200x)  
 2 (2-4 focos por campo de 200x)       3 (>4 focos por 200x)

### - Microgranulomas: Pequenos agregados de macrófagos

- 0 (ausente)       1 ( presente)

### - Lipogranulomas grandes: Geralmente em áreas portais ou adjacentes a veias centrais

- 0 (ausente)       1 ( presente)

### - Inflamação portal: Avaliado com baixa ampliação

- 0 (Ausente a mínima)       1 (Frequente)

## 3) Lesão das células hepáticas- Balonismo

- 0 (Ausente)  
 1 (Poucas células com balonização)  
 2 (Muitas células / balonização proeminente)

### - Corpos acidófilos

- 0 (Ausente a mínima)       1 ( Frequente)

### - Macrófagos pigmentados

- 0 (Ausente a mínima)       1 ( Frequente)

### - Megamitocôndria

- 0 (Ausente a mínima)       1 ( Frequente)

## 4) Outros - Corpúsculo hialinos de Mallory: Visível em manchas de rotina

- 0 (Ausente a mínima)       1 ( Frequente)

### - Glicogenação: Visível em manchas de rotina

- 0 (Ausente a mínima)       1 ( Frequente)

## 5) Classificação diagnóstica

- 0 (Não esteato-hepatite)       1 (Possível / limítrofe)       2 (Esteato-hepatite definida)

OBS: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**APÊNDICE C – INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA IMUNO-HISTOQUÍMICA****Dados: Identificação do paciente****Número do bloco:** \_\_\_\_\_**Linha (L1, L2, L3, L4, L5):** \_\_\_\_\_**Amostra (1, 2, 3, 4, 5 e 6):** \_\_\_\_\_**Anticorpo:** \_\_\_\_\_

Definição e escores Sistema de Pontuação - Imunohistoquímica

**1) Intensidade da coloração****– Citoplasma**

- 1 (intensidade fraca)
- 2 (coloração moderada)
- 3 (intensidade forte)

**- Núcleo**

- 1 (intensidade fraca)
- 2 (coloração moderada)
- 3 (intensidade forte)

**2) Frequência da imuno-expressão****Obs: por meio de contagem de células (máximo de células possível em cada “spot”) em 10 campos**

- 0 (inferior a 5% de células positivas)
- 1 (fraca imunorreatividade, 5 - 25% das células positivas)
- 2 (moderada imunorreatividade, 26-50% das células positivas)
- 3 (moderada a intensa imunorreatividade, 51-75% das células positivas)
- 4 (imureatividade muito intensa, 76- 100% de células positivas)

# **ANEXOS**

**ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFC**UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
CEARÁ/ PROPESQ**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Avaliação da prevalência da hepatite B, hepatite C e esteato-hepatite não alcoólica na cirrose criptogênica em pacientes submetidos ao transplante de fígado no Hospital Walter Cantídio

**Pesquisador:** Ana Lucia de Paula Hanemann

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 55139414.4.0000.5054

**Instituição Proponente:** Departamento de Cirurgia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.666.944

**Apresentação do Projeto:**

A cirrose é uma das principais causas de indicação de transplante hepático e mortalidade em todo o mundo. Várias são as etiologias da cirrose, no entanto, há situações em que mesmo após estudo clínico, sorológico e anatomopatológico detalhado, não é possível esclarecer a doença hepática crônica de base, nesses casos, a cirrose é dita como criptogênica ou idiopática e na maioria das vezes pode tratar-se de um estágio final de algumas doenças crônicas ocultas não identificadas. Diante deste cenário, verifica-se a importância de estudos sobre a cirrose criptogênica com o intuito de estudar e avaliar os pacientes com diagnósticos de cirrose criptogênica que são submetidos ao transplante de fígado no Estado do Ceará. Este estudo tem como objetivo avaliar a prevalência da hepatite B, hepatite C e esteatose hepática na cirrose criptogênica, através vários parâmetros clínicos, laboratoriais e moleculares nos pacientes submetidos ao transplante de fígado no Hospital Universitário Walter Cantídio. Para a pesquisa serão selecionados doadores de fígado, e pacientes que foram submetidos ao transplante de fígado com as seguintes alterações hepáticas: hepatite B, hepatite C, esteatose hepática e cirrose



criptogênica, durante os anos de 2003 a 2013. Serão selecionados cerca de 50 pacientes para esta pesquisa.

### **Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar a prevalência da hepatite B, hepatite C e esteatose hepática na cirrose criptogênica, através dos parâmetros clínicos, laboratoriais e moleculares nos pacientes submetidos ao transplante de fígado no Hospital Universitário Walter Cantídio.

### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: Para paciente não terá risco devido serem utilizados materiais já armazenados. Para o operador da pesquisa terá riscos biológicos devido mexer com materiais biológicos.

Benefícios: Tendo em vista a importância da prevenção ou tratamento das doenças hepáticas com potencial evolutivo para cirrose, é fundamental pesquisar se existe elo entre a hepatite B, hepatite C e a esteatose hepática com a cirrose criptogênica em nosso meio.

### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Os dados disponíveis para as hepatites virais no Brasil são pouco esclarecedores e com abrangência limitada. Assim, o estudo apresenta importância no nosso meio. Em 2010, foram realizados 1295 transplantes hepáticos com doador cadáver (1404, somando-se os realizados com doadores vivos). No entanto, a diferença entre o número de potenciais receptores e a quantidade de órgãos disponíveis evidencia a necessidade de controle sobre a progressão das doenças hepáticas crônicas. O Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), da Universidade Federal do Ceará (UFC), realizou o maior número de transplantes de fígado do Brasil (150 transplante), de acordo com o Registro Brasileiro de Transplantes (RBT), da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO) em 2013. Várias são as etiologias da cirrose (FRIEDMAN, 2003). Conhecê-las é passo fundamental para intervir no curso natural da doença, no sentido de impedir ou retardar sua progressão. No entanto, há situações em que mesmo após estudo clínico, sorológico e anatomopatológico detalhado, não é possível esclarecer a doença hepática crônica de base. Nesses casos, a cirrose é dita como criptogênica ou idiopática (CALDWELL et al., 1999; HERINGLAKE et al., 2009). Em estudos publicados entre 1981 e 1990 mostraram que a cirrose criptogênica tinha uma prevalência de 14 a 43% nas doenças hepáticas crônicas (SAUNDERS et al., 1981; OLANO, 1989). Com o emprego de técnicas de biologia molecular poderão ser desenvolvidos métodos mais precisos de diagnóstico e treinamento de pessoal no nosso meio.

### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O termo de consentimento (TCLE) relata direito de ressarcimento ou indenização no caso de qualquer dano eventual produzido pela pesquisa.

A alteração solicitada para a versão anterior foi realizada QUANTO À ASSINATURA DO TERMO DE CONSENTIMENTO PARA MAIORES OU IGUAIS A 18 ANOS.

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**CEP:** 60.430-275

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br

**Recomendações:**

Caso persista no TCLE o direito a ressarcimento ou indenização os pesquisadores deverão ter ciência de um possível gasto adicional durante a realização da pesquisa. Resguardando os direitos dos sujeitos envolvidos.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não se aplica.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento   | Arquivo  | Postagem               | Autor                       | Situação |
|--|--|------------------------|-----------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                               | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P<br>ROJETO_269465.pdf | 20/06/2016<br>10:31:58 |                             | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência    | TCL_versao_2_de_17_06_2016.pdf                   | 20/06/2016<br>10:31:24 | Ana Lucia de Paula Hanemann | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência    | 2TCL2016.pdf                                     | 16/06/2016<br>14:19:41 | Ana Lucia de Paula Hanemann | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência    | TCLnovo2016ok.pdf                                | 13/06/2016<br>16:18:45 | Ana Lucia de Paula Hanemann | Aceito   |
| Cronograma   | CRONOGRAMAdeprojetodepesquisa.pdf                | 10/06/2016<br>14:33:00 | Ana Lucia de Paula Hanemann | Aceito   |
| Declaração de Pesquisadores                                  | Declaracaoconcordanciapesquisadores2016.pdf      | 13/04/2016<br>14:33:01 | Ana Lucia de Paula Hanemann | Aceito   |
| Outros   | Autorizacaopatologia2016.pdf                     | 07/04/2016<br>16:01:03 | Ana Lucia de Paula Hanemann | Aceito   |
| Orçamento  | Orcamento2016.pdf                                | 07/04/2016<br>15:59:07 | Ana Lucia de Paula Hanemann | Aceito   |
| Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / | Termocompromissopesquisador2016.pdf              | 05/04/2016<br>15:37:25 | Ana Lucia de Paula Hanemann | Aceito   |

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000  
**Bairro:** Rodolfo Teófilo  
**UF:** CE **Município:** FORTALEZA

**CEP:** 60.430-275

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
CEARÁ/ PROPESQ



|  |   |                        |                                |        |
|--|---|------------------------|--------------------------------|--------|
| Biobanco   | Termocompromissopesquisador2016.pdf           | 05/04/2016<br>15:37:25 | Ana Lucia de Paula<br>Hanemann | Aceito |
| Outros   | CartaPROPESQ2016.pdf                          | 05/04/2016<br>15:12:38 | Ana Lucia de Paula<br>Hanemann | Aceito |
| Outros   | Termo_de_ciencia_2016.pdf                     | 10/03/2016<br>10:23:10 | Ana Lucia de Paula<br>Hanemann | Aceito |
| Outros   | Termo_fiel_depositario_2016.pdf               | 10/03/2016<br>10:20:17 | Ana Lucia de Paula<br>Hanemann | Aceito |
| Projeto Detalhado<br>/<br>Brochura<br>Investigador | PROJETO_CIRROSE_CRIPTOG<br>ENICA<br>_2016.pdf | 10/03/2016<br>10:17:51 | Ana Lucia de Paula<br>Hanemann | Aceito |
| Folha de Rosto                                     | Folha_de_rosto_2016.pdf                       | 10/03/2016<br>10:09:06 | Ana Lucia de Paula<br>Hanemann | Aceito |
| Outros   | curriculu.pdf                                 | 05/02/2015<br>14:49:50 |                                | Aceito |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

FORTALEZA, 08 de Agosto de 2016

---

**Assinado por:**  
**FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**CEP:** 60.430-275

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br

## ANEXO B - DECLARAÇÃO STROBE

### Lista de pontos essenciais que devem descrever-se na publicação de estudos observacionais

|                           | Ponto | Recomendação   |
|---------------------------|-------|--|
| ✓ Título e Resumo         | 1     | (a) Indique, no título e no resumo, o desenho do estudo com um termo habitualmente usado<br><br>(b) disponibilize no resumo uma sinopse informativa e equilibrada do que foi feito e do que foi encontrado   |
| <b>Introdução</b>         |       |  |
| ✓ Contexto /fundamentos   | 2     | Explique as razões e os fundamentos científicos para a realização da investigação  |
| ✓ Objectivos              | 3     | Indique os objectivos específicos, incluindo quaisquer hipóteses pré- estabelecidas  |
| <b>Métodos</b>            |       |  |
| ✓ Desenho do estudo       | 4     | Apresente no princípio do documento os elementos chave do desenho do estudo  |
| ✓ Contexto                | 5     | Descreva o contexto, os lugares e as datas relevantes, incluindo os períodos de recrutamento, exposição, acompanhamento e colheita de dados  |
| ✓ Participantes           | 6     | (a) <i>Estudos de coorte</i> : apresente os critérios de elegibilidade, assim como as fontes e o método de selecção dos participantes. Especifique os métodos de acompanhamento.<br><i>Estudos de caso-controlo</i> : Apresente os critérios de elegibilidade assim como as fontes e o processo de diagnóstico dos casos e os métodos de selecção dos controlos. Disponibilize as razões para a selecção dos casos e dos controlos.<br><i>Estudos transversais</i> : Apresente os critérios de elegibilidade assim como as fontes e os métodos de selecção dos participantes<br><br>(b) <i>Estudos de coorte</i> : nos estudos emparelhados, disponibilize os critérios para o emparelhamento e o número de participantes expostos e não expostos.<br><i>Estudos de casos e controlos</i> : nos estudos emparelhados, disponibilize os critérios para o emparelhamento e o número de controlos por cada caso |
| ✓ Variáveis               | 7     | Defina claramente todas as variáveis: de resposta, exposições, preditivas, de confusão e modificadoras do efeito. Se aplicável, apresente os critérios de diagnóstico.   |
| ✓ Fontes de dados/medidas | 8*    | Para cada variável de interesse, forneça as fontes de dados e os detalhes dos métodos de avaliação (medida). Se existir mais que um grupo, especifique a comparabilidade dos processos de medida.  |
| ✓ Vieses                  | 9     | Especifique todas as medidas adoptadas para contrariar potenciais fontes de viés   |

|                           |    |  |
|---------------------------|----|--|
| ✓ Tamanho amostral        | 10 | Explique como se determinou o tamanho amostral   |
| ✓ Variáveis quantitativas | 11 | Explique como se trataram as variáveis quantitativas na análise. Se aplicável, explique que grupos se definiram e porquê.  |
| ✓ Métodos estatísticos    | 12 | (a) Especifique todos os métodos estatísticos incluindo os usados para controlar factores de confundimento<br>(b) Especifique todos os métodos utilizados para analisar subgrupos e interacções<br>(c) Explique o tratamento dos dados ausentes ( <i>missing data</i> )<br>(d) <i>Estudo de coortes</i> : se aplicável, explique como foram abordadas as perdas de acompanhamento<br><i>Estudo de casos-controles</i> : se aplicável, explique como se emparelharam os casos e os controles<br><br><i>Estudos transversais</i> : se aplicável, especifique como se leva em consideração na análise a estratégia de amostragem<br>(e) Descreva as análises de sensibilidade |

---

### Resultados

|                         |             |   |
|-------------------------|-------------|---|
| ✓ Participantes         | 1<br>3      | (a) Descreva o número de participantes em cada fase do estudo; por exemplo números dos participantes potencialmente elegíveis, os analisados para serem incluídos, os confirmados elegíveis, os incluídos no estudo, os que tiveram um acompanhamento completo e efectivamente analisados<br>(b) Descreva as razões da perda de participantes em cada fase<br>(c) Considere o uso de um diagrama de fluxo |
| ✓ Dados descritivos     | 1<br>4      | Descreva as características dos participantes no estudo (por ex <sup>o</sup> demográficas, clínicas, sociais) e a informação sobre as exposições e os possíveis factores de confusão<br>(b) Indique o número de participantes com dados ausentes em cada variável de interesse<br>(c) <i>Estudos de coortes</i> : resuma o período de acompanhamento (por ex <sup>o</sup> média e total)                  |
| ✓ Dados das variáveis   | 1<br>5<br>* | <i>Estudos de coortes</i> : descreva o número de eventos-resultado, ou medidas-resumo ao longo do tempo<br><br><i>Estudos caso-controle</i> : descreva o número de participantes em cada categoria de exposição, ou disponibilize medidas-resumo de exposição<br><br><i>Estudos transversais</i> : descreva o número de eventos-resultado, ou disponibilize medidas-resumo                                |
| ✓ Resultados principais | 1<br>6      | Disponibilize estimativas não ajustadas e, se aplicável, ajustadas por factores de confusão, assim como a sua precisão (por ex <sup>o</sup> intervalos de confiança de 95%). Especifique os factores de confusão pelos quais se ajusta e as razões para incluí-los<br>(b) Se categoriza variáveis contínuas, descreva os pontos de corte  |

|                         |  |
|-------------------------|--|
|                         | (c) Se for pertinente, pondere acompanhar as estimativas de risco relativo com estimativas de risco absoluto para um período de tempo relevante  |
| ✓ Outras análises       | 1 Descreva outras análises efectuadas (de subgrupos, interacções<br>7 ou análises de sensibilidade)  |
| ✓ Discussão             |  |
| ✓ Resultados chave      | 1 Resuma os resultados principais dos objectivos do estudo<br>8  |
| ✓ Limitações            | 1 Discuta as limitações do estudo, tendo em conta possíveis<br>9 fontes de viés ou imprecisão. Discuta tanto sobre a direcção como sobre a magnitude de qualquer possível viés.                                    |
| ✓ Interpretação         | 2 Apresente uma interpretação global prudente dos resultados<br>0 considerando os objectivos, as limitações, a multiplicidade de análise, os resultados de estudos similares e outras provas empíricas relevantes. |
| ✓ Generalização         | 2 Discuta a possibilidade de generalizar os resultados (validade<br>1 externa)   |
| <b>Outra informação</b> |  |
| ✓ Financiamento         | 2 Especifique o financiamento e o papel dos patrocinadores do<br>2 estudo e, se aplicável, do estudo prévio em que se baseia o presente estudo.  |