

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

**Adipocinas e consumo alimentar de mulheres obesas com
doença hepática gordurosa não alcoólica**

Graciane Catarina Batista Magalhães

Cuiabá-MT, Junho/2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

**Adipocinas e consumo alimentar de mulheres obesas com
doença hepática gordurosa não alcoólica**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Biociências da Universidade Federal
de Mato Grosso para a obtenção do
título de Mestre.

Área de Concentração: Nutrição

Linha de Pesquisa: Metabolismo e
Transdução de Sinais

Orientanda: Graciane Catarina Batista Magalhães

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Helena Gaíva Gomes da Silva

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Salete Ferreira Martins

Cuiabá-MT, Junho/2011

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte

M188a Magalhães, Graciane Catarina Batista.

Adipocinas e consumo alimentar de mulheres obesas com doença hepática gordurosa não alcoólica / Graciane Catarina Batista Magalhães, 2011.

ix, 79f. ; 30 cm (incluem figuras)

Orientadora: Maria Helena Gaiva Gomes da Silva

Co-orientadora: Maria Salete Ferreira Martins.

Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Mato Grosso. Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Biociências, 2011.

Catalogação na fonte: Maurício S.de Oliveira CRB/1-1860.

“A cada dia que vivo mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca, e que, esquivando-nos do sofrimento, perdemos também a felicidade”.

Carlos Drummond de Andrade

Ao meu amado sobrinho e afilhado
João Antônio Moraes de Magalhães, que no seu 1º ano de vida, disputou incansavelmente com artigos, livros, rascunhos, notebook..., cada minuto da minha atenção para compartilhar com ele os momentos lúdicos da vida.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Pai Celestial, Deus de amor, bondade e justiça. A minha gratidão pela vida, pelas inúmeras oportunidades de crescimento que nela se apresentam, pela capacidade de sonhar e de ser feliz;

A minha família. A minha gratidão pela existência de cada um de vocês. Vocês são a melhor escola do mundo, pois foi com vocês que aprendi os maiores valores da vida que são o amor, a fraternidade, o altruísmo, o respeito, a abnegação, o devotamento, a paciência e a humildade;

Ao Governo do Estado de Mato Grosso, Secretaria de Estado de Saúde e Ambulatório de DST/AIDS/CERMAC. A minha gratidão pela liberação das atividades profissionais, para possibilitar a nossa dedicação exclusiva à qualificação profissional em nível de mestrado;

A Professora Doutora Maria Helena Gaíva Gomes da Silva. A minha gratidão pela sua confiança, pela sua parceria, pelos seus conhecimentos científicos compartilhados e por todas as oportunidades concedidas a mim, para o meu crescimento profissional e pessoal;

A Professora Doutora Maria Salete Ferreira Martins. A minha gratidão pelas valiosas contribuições para a elaboração deste trabalho, pela sua generosidade e pelo seu bom humor contagiante;

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Biociências da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Mato Grosso/FANUT/UFMT. A minha gratidão pelo convívio, pelos ensinamentos e atenção com a qual sempre fui atendida por todos vocês;

Aos Professores Doutores Márcia Queiroz Latorraca, Márcia Gonçalves Ferreira Lemos dos Santos e Carlos Henrique Fregadolli. A minha gratidão pelos esclarecimentos relativos à Bioestatística;

A nutricionista e querida amiga Keyla Aparecida Pontes Lopes Dias. A minha gratidão por compartilhar o local de trabalho, a clientela, a equipe de trabalho e em especial, aos inesquecíveis momentos vividos em sua casa com sua linda família;

Aos técnicos do Ambulatório de Nutrição e do Setor de Registro do Hospital Universitário Júlio Müller/HUJM/UFMT. A minha gratidão pelo carinho e atenção com que fui tratada no período da coleta de dados;

Ao Serviço de Nutrição Clínica/HUJM/UFMT. A minha gratidão pela oportunidade de participar e ministrar aulas no Centro de Estudos, uma interessante proposta de atualização dos conhecimentos técnicos;

A Silvana Salomão Cury e equipe do Laboratório de Patologia Clínica do HUJM/UFMT, em especial a técnica Edna Maria Silva de Magalhães. A minha gratidão pela atenção e auxílio nas etapas de coleta do soro e realização das análises bioquímicas incluídas no estudo;

Ao Professor Doutor Francisco José Dutra Souto da Faculdade de Ciências Médicas/UFMT. A minha gratidão pela colaboração nas etapas iniciais do estudo;

Ao Professor Doutor Anselmo Verlangieri Carmo da Faculdade de Ciências Médicas/UFMT. A minha gratidão pela realização dos exames de ultrasonografia em todas as mulheres participantes do estudo;

A Professora Doutora Lila Missae Oyama do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP. A minha gratidão pela disponibilidade em nos atender sempre, pelos valiosos esclarecimentos e orientações para as dosagens de adipocinas;

Aos técnicos do Laboratório de Avaliação Biológica de Alimentos/FANUT/UFMT, Silvia Regina de Lima Reis e Celso Roberto Afonso. A minha gratidão a nutricionista Silvia pela recepção acolhedora, pelo envolvimento com as análises de adipocinas, pelos valiosos conhecimentos técnicos compartilhados, e ao Celso, pela atenção sem limites, pela adorável convivência, pelas conversas agradabilíssimas e pelo delicioso café;

A Professora Doutora Nair Honda Kawashita e equipe do Laboratório de Bioquímica do Instituto de Ciências Exatas e da Terra/UFMT, em especial ao técnico Air Francisco Costa e aos alunos de pós-graduação, Daniel Dias Seres e Suélem Aparecida de França. A minha gratidão pela generosa atenção e auxílio na etapa final das determinações de adipocinas;

Aos professores, técnicos e alunos do Laboratório de Investigação da Faculdade de Ciências Médicas/UFMT. A minha gratidão pelo auxílio na etapa das determinações de adipocinas;

Aos professores e técnicos da FANUT/UFMT. A minha gratidão pelo atendimento acolhedor e sempre caloroso;

Aos professores doutores Francisco José Dutra Souto, Márcia Gonçalves Ferreira Lemos e Regina Maria Veras Gonçalves da Silva. A minha gratidão pelas valiosas contribuições a este estudo na fase de qualificação da dissertação;

As professoras Lila Missae Oyama, Regina Maria Veras Gonçalves da Silva e Márcia Gonçalves Ferreira Lemos. A minha gratidão por aceitarem o convite para compor a banca de defesa da dissertação;

A minha “filha” Samara Benites Moreira, graduanda do Curso de Nutrição/FANUT/UFMT e bolsista de iniciação científica, IC/FAPEMAT. A minha gratidão pela oportunidade de conhecê-la e compartilhar os meus humildes conhecimentos, pela sua preciosa colaboração nos momentos de muito trabalho no laboratório, pela amizade especial que nasceu espontaneamente entre nós e pelos inesquecíveis momentos em que estivemos juntas, dentro e fora da UFMT;

A nutricionista, mestranda do Curso de Mestrado em Biociências, FANUT/UFMT, e amiga Francilene de Moraes Feitosa. A minha gratidão pelo convívio, pela amizade, pela sua dedicação sem limites nas longas horas de trabalho no laboratório, pelo seu exemplo de responsabilidade e por todos os seus questionamentos, aprendi muito com eles;

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Biociências/FANUT/UFMT. A minha gratidão por conhecer a todos vocês, por todos os momentos compartilhados, pela atenção sempre carinhosa e pelo auxílio nos momentos de dúvida e dificuldade;

Aos colegas do Ambulatório de DST/AIDS/CERMAC, em especial à nutricionista e amiga Rosemeire Maria Souza Santos e à enfermeira Marly Akemi Shiroma Nepomuceno. A minha gratidão pela amizade, pelo carinho, pela atenção constante e interesse no andamento do Mestrado;

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT). A minha gratidão pelo apoio financeiro ao projeto;

A Coordenação do Curso de Pós-Graduação. A minha gratidão pelo acolhimento, pela generosidade e envolvimento com o nosso estudo;

A todas as mulheres participantes do estudo. A minha gratidão pela confiança, pela valiosa cooperação para a realização deste trabalho e principalmente pela oportunidade de conhecê-las.

RESUMO

A doença hepática gordurosa não alcoólica encontra-se associada com a obesidade e o diabetes mellitus tipo 2 e é caracterizada por resistência à insulina. Sua fisiopatologia é complexa, sendo que a dieta e adipocinas séricas parecem ter um importante papel em sua etiologia. Assim, investigou-se a associação desta doença com as concentrações séricas de algumas adipocinas e o consumo alimentar em mulheres obesas atendidas no ambulatório de nutrição do Hospital Universitário Júlio Müller, em Cuiabá-MT, Brasil. Mulheres obesas (20-50 anos) foram avaliadas por imagem e por parâmetros antropométricos, composição corporal, bioquímicos e clínicos. O consumo alimentar habitual qualitativo foi avaliado pelo Questionário de Frequência Alimentar. Os resultados foram expressos em frequências absoluta e relativa, média $\pm$ erro padrão, mediana e valores mínimo e máximo. Aplicou-se os testes t-Student e Mann Whitney para comparação entre os grupos, coeficiente de correlação de Pearson para análise de correlação das variáveis, Qui-quadrado e teste Exato de Fisher para análise de frequências, estabelecendo-se o nível de significância estatística em 5% ($p \leq 0,05$). Por ultrasonografia do fígado, a doença foi diagnosticada em 40% das 60 mulheres avaliadas. Diabetes tipo 2 e dislipidemia foram mais frequentes no grupo doente. As medidas da razão cintura quadril, da adiposidade visceral, glicemia e insulinemia de jejum, modelo de avaliação homeostática de resistência insulínica, alanina aminotransferase e gamaglutamiltransferase também foram maiores neste grupo, porém as concentrações séricas de leptina, resistina, fator de necrose tumoral- α e interleucina-6 foram similares. Ocorreu hipoadiponectinemia em ambos os grupos, sendo os menores níveis no grupo doente, os quais correlacionaram negativamente com o colesterol total, lipoproteínas de baixa e de muito baixa densidade e com o fator de necrose tumoral- α , e, positivamente, com o peso, adiposidades subcutânea e visceral e leptina. Não se observou diferença no consumo alimentar qualitativo e a hipoadiponectinemia associou-se ao consumo de sacarose e alimentos gordurosos em ambos os grupos. Concluiu-se que a hipoadiponectinemia nesta doença foi associada à sacarose e aos alimentos gordurosos da dieta reforçando, portanto, o importante papel da dieta na ocorrência desta doença.

Palavras-chave: doença hepática gordurosa não alcoólica, adipocinas, consumo alimentar, obesidade.

ABSTRACT

Nonalcoholic fatty liver disease is associated with obesity and type 2 diabetes mellitus and is characterized by insulin resistance. Its pathophysiology is complex and the diet and serum adipokines seem to play an important role in its etiology. Thus, we investigated the association of this disease with the serum concentrations of some adipokines and food intake in obese women treated at the outpatient nutrition at the University Hospital Júlio Muller, Cuiabá-Mato Grosso, Brazil. Obese women (20-50 years) were evaluated by image and by anthropometric, body composition, biochemical and clinical data. Food consumption was assessed by qualitative food frequency questionnaire. The results were expressed in absolute and relative frequencies, mean $\pm$ standard error, median and minimum and maximum values. We applied the Student's t test and Mann Whitney test for comparison between groups, Pearson correlation coefficient for correlation analysis of variables, Chi-square and Fisher exact test for frequency analysis, setting the level of statistical significance 5% ($p \leq 0,05$). By ultrasound of the liver disease was diagnosed in 40% of 60 obese women evaluated. Type 2 diabetes and dyslipidemia were more frequent in the patient group. Measurements of waist-to-hip ratio, visceral adiposity, blood glucose and fasting insulin, homeostatic model assessment of insulin resistance, alanine aminotransferase and gammaglutamyltransferase were also higher in this group, but serum leptin, resistin, tumour necrosis factor- α and interleukin-6 concentrations were similar. Hypoadiponectinemia occurred in both groups, with the lowest levels in the patient group, which correlated negatively with total cholesterol, low and very low density lipoproteins and tumour necrosis factor- α , and positively with weight, subcutaneous and visceral adiposity and leptin. There was no difference in qualitative food intake and hypoadiponectinemia associated with the consumption of sucrose and fatty foods in both groups. Hypoadiponectinemia in NAFLD was associated with dietary sucrose and fatty food intake, underscoring the important role of diet in the occurrence of this disease.

Key-words: nonalcoholic fatty liver disease, adipokines, food intake, obesity.

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO.....	17
2.0 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1. Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA).....	18
2.2. Consumo Alimentar.....	19
2.3. Adipocinas.....	22
2.4. Resistência Insulínica e Obesidade.....	26
3.0 OBJETIVOS.....	28
3.1. Objetivo Geral.....	28
3.2. Objetivos Específicos.....	28
4.0 ARTIGO.....	29
CAPA	29
ABSTRACT	30
INTRODUCTION	31
PATIENTS AND METHODS	31
Study design	31
Study measurements	32
Interview	32
Anthropometric measurements and body composition	32
Biochemical tests	33
Clinical examination	34
Radiological examination	34
Statistical analysis	35
RESULTS	35
DISCUSSION	38
CONCLUSION	41

ACKNOWLEDGMENTS	41
REFERENCES	41
TABLES AND FIGURES	47
5.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXOS.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

AG	Ácido graxo
AGL	Ácido graxo livre
AMPK	Adenosina monofosfato kinase
BMI	Body mass index
CPT-1	Carnitina palmitoil transferase-1
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM	Diabetes mellitus
EHNA	Esteato-hepatite não alcoólica
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FA	Fatty acid
FFQ	Food-frequency questionnaire
HDL	High density lipoprotein
HOMA-IR	Homeostatic model assessment insulin resistance
IL-6	Interleucina-6
IL-6	Interleukin-6
IR	Insulin resistance
LDL	Low density lipoprotein
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MUFA	Monounsaturated fatty acid
NAFLD	Nonalcoholic fatty liver disease
NASH	Nonalcoholic steatohepatitis
PPAR- α	Peroxisome proliferator activated receptor-alpha
PPAR- γ	Peroxisome proliferator activated receptor-gama
PUFA	Poliunsaturated fatty acid
QFA	Questionário de frequência alimentar

RI	Resistência à insulina
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
SA	Subcutaneous adiposity
SEM	Standard error of mean
SPSS	Statistical Package for the Social Science
TAG	Triacylglycerol
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
TNF- α	Tumour necrosis factor-alpha
US	Ultrasound
VA	Visceral adiposity
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VLDL	Very low density lipoprotein
WHR	Waist-to-hip ratio

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Table 1. Distribution of women studied according to age, prevalence and degree of obesity and NAFLD, and practice and type of physical activity.....	47
Table 2. Demographic, anthropometric and body composition analysis of NAFLD and Control groups.....	48
Table 3. Biochemical and clinical analysis of NAFLD and Control groups.....	49
Figure 1. Serum adipokines in NAFLD and Control groups: (A) adiponectin, (B) leptin, (C) resistin, (D) interleukin-6 and (E) tumour necrosis factor- α . Mann Whitney test (A,B, D,E) and Student's t-test (C).....	50
Table 4. Association between reduced serum adiponectin concentrations (<0.35ng/mL) and frequent intake according to FFQ of animal protein, simple carbohydrates and fats.....	51

1. INTRODUÇÃO

A Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) tem emergido como a mais importante causa de doença hepática crônica, relacionada com o aumento da obesidade e diabetes mellitus tipo 2 na população (Videla 2006). Caracteriza-se por um amplo espectro de dano hepático, o qual varia de simples esteatose ou acúmulo intracelular de triacilglicerol (TAG), inflamação ou esteatohepatite não-alcoólica (EHNA) até fibrose e cirrose (Videla 2008).

A prevalência da DHGNA na população em geral é de 15-20%, enquanto que a de EHNA corresponde a 3% (Angulo 2002; Fracanzani et al. 2008). Sua prevalência em indivíduos obesos está entre 76-90% e de 50% nos diabéticos tipo 2 (Reddy & Rao 2006; Anderson & Borlak 2008). Relatos na literatura indicam que a prevalência da esteatose hepática, a forma mais simples da DHGNA, tende a ser maior em homens (Shen et al. 2003; Ruhl & Evehart 2003; Clark, Brancati & Diehl 2003), em certos grupos étnicos - até 45% de hispânicos (Browning et al. 2004) e que aumenta com a idade (Amarapurkar et al. 2007; Li et al. 2009; Ascha et al. 2010).

A fisiopatologia da DHGNA é complexa e dados disponíveis sugerem que fatores ambientais como alguns componentes da dieta e o sedentarismo são suscetíveis de serem importantes na sua etiologia (Cotrim et al. 1999). Achados recentes indicam que, alimentos com elevado índice glicêmico, carboidratos simples como a frutose, e as gorduras em geral, favorecem a deposição de gordura nos hepatócitos (Lê & Bortolotti 2008). O fato da prevalência da DHGNA variar entre diferentes grupos raciais (Browning et al. 2004; Solga et al. 2005) e de existirem índices variáveis de progressão da doença entre indivíduos com fatores de risco similares, indica firmemente o papel dos genes nesse processo (Willner et al. 2001). Outros papéis chave na patogênese da esteatose e na progressão para EHNA são as adipocinas (adiponectina, leptina e resistina) e diferentes citocinas (TNF- α e IL-6), secretadas pelo adipócito ou pelas células inflamatórias que infiltram o tecido adiposo nos estados de resistência insulínica (Vanni et al. 2010).

O objetivo do presente estudo foi analisar a relação entre as concentrações séricas de algumas adipocinas e o consumo alimentar qualitativo em mulheres obesas com DHGNA.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA)

A DHGNA inclui uma gama de características patológicas desde simples esteatose, à esteatohepatite não alcoólica (EHNA) e à cirrose (Clark & Diehl 2003). Ocorre em indivíduos cujo consumo de álcool é insignificante (<10g/dia para mulheres, <20g/dia para homens) e é caracterizada histologicamente por no mínimo 5% de esteatose e outras mudanças parenquimais, variando da inflamação, à fibrose e à apoptose/necrose do hepatócito (Younossi 2008).

A prevalência da DHGNA está aumentando em paralelo ao aumento da obesidade, sendo ambos os processos estreitamente ligados à resistência insulínica. A epidemia mundial da obesidade e a prevalência da DHGNA são muito provavelmente influenciadas, se não diretamente relacionadas, à dieta e à relativa falta de exercício do estilo de vida ocidental (Hossain, Kavar & El Nahas 2007).

As taxas de prevalência desta hepatopatia variam de acordo com a população de estudo e com a modalidade de exame empregada para estabelecer o diagnóstico (Vernon, Baranova & Younossi 2011). Contudo, diferentes estudos indicam que a DHGNA atinge menos de 10% dos chineses (Li et al. 2009), entre 10-20% da população de Taiwan (Chen et al. 2006) e da Korea (Park et al. 2006), 20% dos italianos (Bedogni et al. 2005), entre 20-30% dos japoneses (Jimba et al. 2005) e israelitas (Zelber-Sagi et al. 2006) e mais de 30% da população dos Estados Unidos (Browning et al. 2004), do Sri Lanka (De Hewavisenanthi, Dassanayake & De Silva 2005; Dassanayake et al. 2009), da Índia (Mohan et al. 2009) e do Brasil (Karnikowski et al. 2007).

No Brasil, o perfil clínico-epidemiológico da doença foi avaliado através de um estudo multicêntrico envolvendo 1280 pacientes das várias regiões do país. A análise dos resultados mostrou que a DHGNA é em geral assintomática, é mais freqüente em homens com idade de 50 ± 13 anos e tem como principais fatores de risco a dislipidemia e a obesidade. O diagnóstico histológico de esteato-hepatite foi realizado em 58% dos 437 casos que realizaram biópsia hepática, sendo que aproximadamente 15% já apresentavam cirrose à biópsia. Três casos de carcinoma hepatocelular foram observados (Cotrin et al. 2011).

Como em outros complexos processos de doença, fatores ambientais, genéticos e hormonais latentes que resultam na expressão fenotípica da doença, têm que ser

considerados na prevalência estimada. Diferenças notórias no risco de desenvolvimento da DHGNA estão relacionadas à idade, gênero e etnicidade. Até hoje, nenhum dos variados métodos para estimar a prevalência podem distinguir esteatose e esteatohepatite, resultante de fontes não alcoólicas daquelas resultantes do abuso de álcool. Embora seja reconhecido que, até o momento, o método padrão ouro para o diagnóstico da DHGNA é a avaliação do tecido hepático, este método não pode evidentemente ser empregado para rastreio da população e fora do local de estudo, a biópsia hepática só é realizada para as anomalias detectadas clinicamente (Neuschwander-Tetri, Unalp & Creer 2008). Na população em geral, a ultrassonografia (US) de abdômen é a técnica mais comumente usada para o diagnóstico da esteatose hepática (Bellentani et al. 2010). Embora esta técnica tenha sensibilidade para detecção de esteatose de 60-94% e especificidade de 88-95%, a US tem a vantagem de ser um exame de baixo custo e sem riscos conhecidos, disponível em quase todos os centros e, portanto pode ser considerado um bom método para o rastreamento da doença (Saadeh et al. 2002; Charatcharoenwitthaya & Lindor 2007).

A marca histológica inequívoca da DHGNA em adultos e crianças, é a esteatose, que representa a manifestação histológica do lipídio intracitoplasmático na forma de triacilglicerol (TAG), dentro de hepatócitos. Por definição, esteatose é sempre um componente da DHGNA (Puri et al. 2007).

O TAG pode ser utilizado como combustível metabólico no fígado, através da oxidação, exportado para fora dos hepatócitos como lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), ou armazenado. As fontes primárias de TAG aumentados nos hepatócitos são: a) ácidos graxos da dieta carregados ao fígado, que aumentam a resistência insulínica sistêmica; b) lipogênese *de novo* dentro dos hepatócitos; c) recirculação de ácidos graxos não esterificados de tecidos periféricos (alguns do tecido adiposo e outros do músculo esquelético) e, d) remoção inadequada via produção e secreção de VLDL. O desequilíbrio entre estas entradas e saídas resulta em esteatose e contribui possivelmente para a inflamação e os efeitos subsequentes (Tiniakos, Vos & Brunt 2010).

2.2. Consumo alimentar

O consumo alimentar quantitativo e qualitativo de indivíduos e populações é definido mediante a aplicação de procedimentos metodológicos denominados de

inquéritos dietéticos (Vasconcelos 2007). Dentre os inquéritos dietéticos existentes, destaca-se o Questionário de Frequência Alimentar (QFA), o qual é considerado o mais prático e informativo método de avaliação em estudos que investigam a associação entre o consumo dietético e a ocorrência de desfechos clínicos, em geral relacionados às doenças crônicas não transmissíveis (Fisberg et al. 2008). Contudo, apresenta limitações como dependência da memória dos entrevistados, menor acurácia na quantificação da ingestão alimentar (Costa et al. 2006; Ribeiro et al. 2006) e aspectos como idade, grau de escolaridade e etnicidade, podem interferir na validade das informações coletadas pelo QFA (Kristal et al. 1997). No entanto, este método tem como vantagens o baixo custo, a rápida aplicação, fácil aplicabilidade, além de ser objetivo e adaptável à população alvo (Matarazzo et al. 2006).

Investigações em animais (Buettner et al. 2006) e em humanos (Puri et al. 2007) mostram que existem significantes diferenças na injúria hepática relacionada aos tipos de ácidos graxos. Alterações no(s) tipo(s) da gordura de ambos, dieta e armazenamento no fígado, provavelmente contribuem para a DHGNA. Buettner et al. (2006) compararam dietas hiperlipídicas (consistindo de 42% da energia proveniente de gordura) utilizando óleo de coco (principalmente gordura saturada de cadeia média), azeite de oliva (principalmente monoinsaturada - MUFA), banha de porco (mistura de gordura saturada e MUFA), óleo de peixe (principalmente poliinsaturada - PUFA) em ratos. Após 12 semanas, as primeiras três dietas contribuíram para significativa ocorrência de esteatose hepática, seguido de aumento nos TAG no plasma, o que não foi observado com a dieta à base de óleo de peixe.

No estudo de Puri et al. (2007), foram definidos, por cromatografia capilar gasosa, as quantidades e os tipos de lipídios que se acumulam no fígado na DHGNA. Os autores encontraram maior razão de ácidos graxos ômega 6 : ômega 3, quantidades aumentadas de colesterol livre e de diacilglicerol (DAG), alterações na composição de ácidos graxos de DAG, redução de fosfatidilcolina, do ácido araquidônico e de ácidos graxos ômega 3, demonstrando que a DHGNA está associada à numerosas mudanças na composição de lipídios no fígado.

A disponibilidade reduzida de PUFA na dieta pode também contribuir para a ocorrência de esteatose, favorecendo a síntese de lipídios sobre a oxidação e a exportação. Em pacientes com DHGNA, uma depleção relativa de PUFA, particularmente os PUFA de cadeia longa das classes ômega 3 e 6, tem sido observada (Araya et al. 2004).

A lipogênese *de novo* geralmente aumenta ou diminui em resposta à alimentação e ao jejum, sendo aumentada após o consumo de cada refeição. Apresenta-se aumentada em pacientes com DHGNA comparada a indivíduos saudáveis (Diraison, Moulin & Beylot 2003), mas não se eleva no período pós prandial (Donnelly et al. 2005). Já foi descrito, em modelos animais com resistência insulínica hepática, que o aumento da lipogênese *de novo* pode causar duplas alterações metabólicas que levam ao aumento do teor de TAG no hepatócito. A primeira alteração é direta, através do aumento da síntese de TAG e, a segunda é indireta, através do aumento da produção de malonil-CoA, a qual inibe a carnitina palmitoil transferase-1 (CPT-1) e conseqüentemente a entrada de ácido graxo (AG) na mitocôndria, reduzindo então o processo de beta-oxidação e aumentando o acúmulo de AG e TAG no fígado (Browning & Horton 2004). Contudo, em humanos com DHGNA apesar da lipogênese *de novo* encontrar-se elevada, apenas 26% dos TAG armazenados no fígado provêm desta fonte (Donnelly et al. 2005). Este defeito no fluxo da lipogênese *de novo* pode ser induzido em indivíduos normais, assim como em hiperinsulinêmicos via refeição hiperglicídica (Schwarz et al. 2003). Parks et al (2008) testaram açúcares simples na resposta lipogênica, em controles saudáveis e verificaram que a ingestão aguda de frutose (mas não de glicose), estimulou em duas vezes a lipogênese *de novo*, aumentando então a lipemia pós prandial.

O consumo de frutose pode ser um importante colaborador para a patogênese da DHGNA. A frutose é um monossacarídeo comumente encontrado na dieta como um componente de xarope de milho ou, como parte do dissacarídeo sacarose (cana de açúcar). É bem documentado que o consumo de frutose tem aumentado notavelmente ao longo das últimas décadas, especialmente na forma de xarope de milho, um componente primário da maioria de refrigerantes e sucos industrializados (Vos et al. 2008). O alto consumo de frutose pode resultar em superalimentação e ganho de peso, assim como em anômala hiperinsulinemia de jejum (Tetri et al. 2008), uma vez que o consumo prolongado desse monossacarídeo resulta em maiores concentrações circulantes de grelina e menores de insulina e leptina, retardando a resposta central de saciedade (Teff et al. 2004). Modelos animais com frutose dietética aumentada têm mostrado aumento na esteatose hepática (Bergheim et al. 2008). Estudos em pacientes com DHGNA também demonstraram que o consumo aumentado desse monossacarídeo (Ouyang et al. 2008; Thuy et al. 2008), e o consumo de refrigerantes em particular (mesmo nas bebidas chamadas dietéticas), podem estar associados com DHGNA (Assy et al. 2008).

Ingestão de alguns nutrientes em indivíduos com DHGNA tem sido avaliada em populações de italianos (Musso et al. 2003), japoneses (Toshimitsu et al. 2007), israelitas (Zelber-Sagi et al. 2007) e americanos (Kim et al. 2010). Aumento no consumo de carnes e refrigerantes e, redução no de peixes foram associados com a ocorrência de DHGNA. Não surpreendentemente, o baixo consumo de PUFA e a alta ingestão de gordura saturada e colesterol, foram também associados à DHGNA. Outros estudos têm mostrado que dietas ricas em carboidratos e com mais baixos teores de lipídios estão relacionadas com a progressão da doença (Solga et al. 2004; Kang et al. 2006).

Contrariamente, dados mais recentes em animais têm mostrado que em ambos, camundongos (Bruce et al. 2009) e primatas não humanos (McCurdy et al. 2009), a exposição materna à dieta rica em gordura favorece o desenvolvimento e a progressão da DHGNA na prole.

Finalmente, vale a pena notar que ácidos graxos livres derivados da dieta, e/ou da lipólise do tecido adiposo e/ou da lipogênese *de novo* no fígado, não são apenas o último substrato para a síntese hepática de TAG, mas também têm um importante papel direto na patogênese da DHGNA. Ácidos graxos livres são hábeis em interagir com receptores do sistema imune inato (Lee & Hwang 2006), ativar apoptose celular (Malhi et al. 2006), induzir estresse oxidativo (Czaja 2007), induzir a produção de citocinas e espécies reativas de oxigênio (Wang, Wei & Pagliassotti 2006), e interferir diretamente com a sinalização da insulina (Gao et al. 2004; Solinas et al. 2006).

Nesse contexto, é importante enfatizar o papel de algumas adipocinas e mediadores inflamatórios como: adiponectina, leptina, resistina, TNF- α e IL-6. Na verdade, esses mediadores moleculares, cuja expressão é também fortemente associada com obesidade visceral, parecem desempenhar um papel decisivo na modulação da sinalização de insulina e na cascata inflamatória, duas condições que parecem ser centrais não apenas para o acúmulo de gordura hepática, mas também para a progressão da doença (Petta, Muratore & Craxi 2009).

2.3. Adipocinas

As adipocinas desempenham um papel importante na homeostase energética, sensibilidade à insulina, resposta imunológica e doença vascular (Gregoire 2001; Prins 2002; Xu et al. 2003; Fantuzzi 2005) e o balanço entre elas, parece ser importante na

ação sistêmica e hepática da insulina e no desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (Tilg & Hotamisligil 2006).

Um efeito protetor contra a esteatose hepática foi atribuído à adiponectina por Méndez-Sánchez et al. (2005). Essa proteína é altamente expressa no tecido adiposo e sua concentração circulante no soro humano é aproximadamente 10µg/mL (Kadowaki & Yamauchi 2005). Seus níveis plasmáticos estão entre 5-30mg/L em indivíduos magros e representa 0,01% das proteínas do plasma. A expressão do seu RNAm varia de acordo com o local do tecido, sendo menor no tecido adiposo visceral que no subcutâneo (Lihn et al. 2004) e em adipócitos humanos, sua expressão é reduzida pelo fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e pela interleucina-6 (IL-6) (Bruun et al. 2003).

A adiponectina é a mais abundante proteína secretada pelo tecido adiposo (Katja et al. 2008) e, ao contrário de outras adipocinas, é subexpressa em pacientes obesos com resistência insulínica ou com diabetes tipo 2, com doença arterial coronariana (Yamauchi et al. 2002) e em indivíduos com a DHGNA (Targher et al. 2006; Jiang et al. 2009; Savvidou et al. 2009).

No fígado, a adiponectina tem propriedades de sensibilização de insulina, redução da gliconeogênese, do influxo de ácidos graxos para o fígado, aumento da oxidação de ácidos graxos e diminuição da lipogênese *de novo*. Possui ainda ações antifibrogênica e antiinflamatória (Polyzos et al. 2010).

Em termos clínicos, a hipoadiponectinemia tem sido associada à resistência insulínica e DHGNA e pode representar um fator de risco independente para esta hepatopatia (Nazal et al. 2010). Níveis séricos reduzidos de adiponectina parecem estar associados com subtipos histológicos mais avançados de DHGNA e tem sido proposto por alguns autores como um marcador não invasivo de DHGNA (Shimada et al. 2007; Younossi et al. 2008).

Diferentes estudos têm mostrado uma correlação negativa entre as concentrações de adiponectina e a severidade da EHNA, sugerindo que a adiponectina não é somente um marcador útil para distinguir a esteatose simples da EHNA, mas também um útil marcador prognóstico (Hui et al. 2004; Targher et al. 2006). Esses resultados foram confirmados por Jarrar et al. (2008) e Lemoine et al. (2009) em cujos estudos, as concentrações séricas de adiponectina foram significativamente menores na esteatohepatite não alcoólica comparada com esteatose simples e controles.

A leptina é principalmente secretada por adipócitos e tem um papel essencial na ingestão alimentar, dispêndio de energia e adiposidade. Suas concentrações séricas

servem como um medidor das reservas de energia, desempenhando um papel na regulação da homeostase energética, função neuroendócrina e no metabolismo. Encontra-se em proporção direta à massa de gordura corporal, diminuída no jejum e aumentada no período pós-prandial. A obesidade é sabidamente acompanhada de hiperleptinemia (Kelesidis et al. 2010).

No fígado, a leptina reduz a produção de glicose e a lipogênese *de novo*, enquanto induz a oxidação de ácidos graxos (Marra & Bertolani 2009; Polyzos, Kountouras & Zavos 2009). Essa adipocina tem sido considerada um hormônio antiesteatótico protegendo tecidos não gordurosos, inclusive o fígado, do acúmulo de gordura e da lipotoxicidade (Lee et al. 2001). No entanto, em estados de resistência à insulina (RI), incluindo a obesidade, não só o efeito protetor da hiperleptinemia parece ser limitado como também pode ser adverso, promovendo a RI, a esteatose hepática, a fibrose, a inflamação e a oncogênese (Lee et al. 2001).

A hiperleptinemia tem sido implicada na patogênese da DHGNA (Marra & Bertolani 2009; Polyzos et al. 2009), ocorrendo no estágio mais avançado da doença onde suas concentrações séricas estão diretamente correlacionadas com esteatose hepática, peptídeo C e alanina aminotransferase (Chitturi et al. 2002).

A resistina foi inicialmente descoberta no lavado bronco-alveolar de ratos. Seu nome foi escolhido pelo fato de induzir, nos mesmos animais, quando em níveis elevados, resistência à insulina (Fantuzzi 2005; Mitchell et al. 2005). Além disso, no fígado de camundongos deficientes em resistina submetidos à dieta hiperlipídica, a infiltração gordurosa e a secreção de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) estão diminuídas, sugerindo um papel para a resistina na indução da esteatose hepática (Singhal et al. 2008).

Em humanos, a expressão desta adipocina é elevada em monócitos e macrófagos, mas reduzida nos adipócitos (Fantuzzi 2005; Mitchell et al. 2005). Suas funções no organismo humano ainda não são bem entendidas (Katja et al. 2008) e as mensurações de seus níveis circulantes em pacientes com DHGNA, produziram resultados conflitantes. Pagano et al. (2006) encontraram maiores níveis plasmáticos de resistina e de RNAm no tecido adiposo de pacientes com DHGNA do que em controles, e os níveis dessa adipocina foram diretamente correlacionados com o *score* de EHNA. Jarrar et al. (2008) não encontraram diferenças na resistina sérica de indivíduos com DHGNA e controles, porém Charlton et al. (2008) dosaram a resistina sérica em pacientes com

DHGNA leve e avançada, e encontraram concentrações significativamente maiores no grupo com a doença avançada.

O TNF- α , uma citocina pró-inflamatória, foi implicado no desenvolvimento de resistência à insulina em animais. Está aumentado no tecido adiposo na obesidade e diminuído com a perda de peso e melhora da sensibilidade à insulina. Pode afetar a sinalização da insulina *in vivo* e *in vitro*, diminuir a expressão da adiponectina no tecido adiposo e seus níveis circulantes em indivíduos obesos (Ruan et al. 2002).

Esta citocina está implicada na patogênese da EHNA. Crespo et al. (2001) mensuraram os níveis de RNAm de TNF- α no tecido hepático de pacientes com e sem EHNA e encontraram níveis significativamente mais elevados no primeiro grupo. Outros estudos demonstraram que as concentrações séricas desta citocina eram maiores naqueles com a forma mais avançada da DHGNA, do que naqueles com esteatose simples e controles (Abiru et al. 2006; Haukeland et al. 2006; Park et al. 2007). Resultado similar foi demonstrado no estudo conduzido por Tokushige et al. (2007) para as concentrações séricas de ambos os receptores solúveis desta citocina.

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina produzida por várias células (fibroblastos, células endoteliais, monócitos) e pelo tecido adiposo, o qual está aumentado na obesidade (Trayhurn & Wood 2004; Bastard et al. 2006). O tecido adiposo visceral produz três vezes mais IL-6 que o tecido adiposo subcutâneo (Fried et al. 1998). Sua produção pelo tecido adiposo pode ter um efeito direto no metabolismo hepático já que sua drenagem venosa vai diretamente para o fígado através da veia porta, contribuindo diretamente para a hipertrigliceridemia relacionada à obesidade, por estimular a síntese hepática de TAG (lipoproteína de muita baixa densidade – VLDL) (Nonogaki et al. 1995).

Relatos de Abiru et al. (2006) e Haukeland et al. (2006) demonstraram que na DHGNA, a IL-6 estava significativamente elevada em comparação àqueles sem a doença. Contudo, quando ambos os autores compararam as concentrações desta citocina nos diferentes estágios da DHGNA, os resultados foram conflitantes, sendo que Haukeland et al. (2006) não encontraram diferenças nos níveis de IL-6 na esteatose simples e na EHNA, enquanto Abiru et al. (2006) concluíram que esta citocina foi hábil em distinguir a esteatose simples da forma mais avançada da doença hepática.

2.4. Resistência Insulínica e Obesidade

A resistência à insulina (RI) aumenta a lipólise periférica, levando ao aumento das concentrações de ácidos graxos livres (AGL) no fígado, o que é potencialmente tóxico ao órgão (George & Liddle 2008). Apesar da RI causar uma alteração na via glicoregulatória da insulina, os efeitos lipogênicos desse hormônio são mantidos (George & Liddle 2008), e os hepatócitos ficam protegidos pela transformação, catabolização e exportação do AGL em excesso (George & Liddle 2008; Seo et al. 2008). Essas alterações parecem ter um papel fundamental na ocorrência do fígado gorduroso induzido pela RI, promovendo a mobilização de ácidos graxos da periferia para o fígado (Fabbrini et al. 2008).

A retenção de AGL e TAGs dentro de hepatócitos, a qual depende da RI e da hiperinsulinemia, leva à produção de radicais livres em nível mitocondrial, capazes de induzir a peroxidação lipídica, produção de citocinas e necrose de hepatócito (Aronis, Madar & Tirosh 2005), o que pode promover a progressão da esteatose simples para a EHNA, forma mais grave da doença (Videla et al. 2006; Maher, Leon & Ryan 2008).

O papel do tecido adiposo, mais especificamente a obesidade central, fenótipo associado com aumentada gordura visceral na patogênese da DHGNA, é primário. O acúmulo de gordura no fígado é, em grande parte, dependente da recirculação de AGL do *pool* do tecido adiposo. É reconhecido que o tecido adiposo visceral tem maior potencial lipolítico comparado ao subcutâneo, embora este seja o mais abundante, e a liberação de AGL dos depósitos de gordura visceral diretamente dentro da circulação portal, é um dos mecanismos da injúria hepática (Marchesini et al. 2008).

Estudos baseados em espectroscopia de prótons por ressonância magnética têm mostrado que a quantidade de lipídios intrahepatocelular aumenta em aproximadamente 20% para cada 1% de aumento do tecido adiposo total ou subcutâneo, mas dobra para cada 1% de aumento do tecido adiposo intra-abdominal (Thomas et al. 2005), explicando então porque modestas mudanças na gordura visceral (na ausência de aumento do índice de massa corporal - IMC) podem causar esteatose (Bugianesi et al. 2005). O acúmulo de TAG nos hepatócitos é resultante de ambos, afluxo aumentado de AGL e de lipogênese *de novo*. Por técnicas do isótopo estável, tem sido estimado que na presença de esteatose, 59% dos TAG presentes no fígado chegam da recirculação do tecido adiposo, 26% da lipogênese *de novo* dos carboidratos da dieta – um valor muito

maior do que o relatado em indivíduos normais – e 15% dos lipídios da dieta (Donnelly et al. 2005).

Enfim, os mecanismos associados com o acúmulo de TAGs no fígado e subsequente dano hepatocelular são multifatoriais e não completamente entendidos (Adams & Ângulo 2005; Niaz et al. 2011). Entretanto, dentre as anormalidades metabólicas que levam à esteatose hepática, destacam-se a reação lipotóxica ao estresse oxidativo, os fatores nutricionais e as mudanças no metabolismo lipídico hepático, que são principalmente resultado da RI (Videla et al. 2006; Méndez-Sánchez et al. 2007; Anderson & Borlak 2008; Musso, Gambino & Cassader 2009).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Analisar a relação entre concentrações séricas de algumas adipocinas e o consumo alimentar qualitativo em mulheres obesas com DHGNA.

3.2. Específicos

3.2.1. Caracterizar o grupo de mulheres estudadas de acordo com os dados demográficos, antropométricos, bioquímicos, clínicos e de estilo de vida;

3.2.2. Identificar as patologias de maior frequência no grupo de mulheres com DHGNA;

3.2.3. Comparar as concentrações séricas de algumas adipocinas nas mulheres incluídas no estudo;

3.2.4. Correlacionar a(s) adipocina(s) cujas concentrações foram significativamente diferentes entre os grupos, com os dados antropométricos e de composição corporal, bioquímicos e clínicos em mulheres com e sem DHGNA;

3.2.5. Caracterizar o consumo alimentar qualitativo de mulheres obesas com e sem DHGNA, mediante aplicação do Questionário de Frequência Alimentar (QFA);

3.2.6. Associar a(s) adipocina(s) cujas concentrações foram significativamente diferentes entre os grupos, com o consumo alimentar qualitativo de alimentos fontes de proteína animal, carboidratos simples e gorduras, segundo o QFA, de mulheres com e sem DHGNA.

4.0 ARTIGO CIENTÍFICO

Hypoadiponectinemia in nonalcoholic fatty liver disease among obese women was associated with dietary sucrose and fat intake

Magalhães, Graciane Catarina Batista; Martins, Maria Salete Ferreira; Gomes-da-Silva, Maria Helena Gaíva.

Corresponding author

Maria Helena Gaíva Gomes da Silva. Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Avenida Fernando Correa da Costa, 2367. 78060-900, Bairro Boa Esperança, Cuiabá, MT, Brazil.

Phone: +55-65-3615 8814

Fax: +55-65-3615 8811

E-mail: marihele@ufmt.br

Key words: adiponectin, sucrose, fatty food, obesity, nonalcoholic fatty liver disease

This work is supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso-FAPEMAT (Grant N° 002.027/2007), Universidade Federal de Mato Grosso-UFMT and Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso-SES/MT.

ABSTRACT

Objective: Investigate the relationship between adiponectinemia and food intake among obese women with NAFLD. **Method:** A total of 60 obese women were examined by abdominal ultrasound for liver steatosis and subcutaneous and visceral adiposity. A standard interview (including questions about alcohol intake, medical history and physical activity), a physical examination (including height, weight, body mass index, waist and hip circumferences, waist-to-hip ratio and body composition) and biochemical and clinical parameters (including serum glucose and insulin, homeostatic model assessment insulin resistance, lipid profile, aminotransferases, C-reactive protein, adiponectin, leptin, resistin, tumour necrosis factor- α , interleukin-6 levels and blood pressure) were performed. Food intake was evaluated by a qualitative food frequency questionnaire. **Results:** Twenty-four nonalcoholic fatty liver disease patients and thirty-six controls were analyzed. The Mann Whitney test showed lower adiponectin levels in the liver disease group compared to the controls ($p=0.005$). The Pearson correlation coefficient indicated that hypoadiponectinemia was negatively correlated with total cholesterol, very low and low density lipoproteins and serum tumour necrosis factor- α ($p=0.05$) and was positively associated with body weight, subcutaneous and visceral adiposity and serum leptin ($p<0.05$). Chi-square and Fisher exact tests indicated that in both groups, food intake showed no differences, but sucrose and fatty foods were associated with lower adiponectin levels in the liver disease group ($p=0.045$ and $p=0.002$, respectively), as well as in the control group ($p=0.054$ and $p=0.046$, respectively). **Conclusion:** Hypoadiponectinemia in NAFLD was associated with dietary sucrose and fatty food intake, underscoring the important role of diet in the occurrence of this disease.

Key words: adiponectin, sucrose, fatty food, obesity, nonalcoholic fatty liver disease

INTRODUCTION

The pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is complex, and reports suggest that environmental factors such as diet¹ may be important in its etiology. Investigations of dietary intake among patients with NAFLD indicate high intake levels of soft drinks², sweets³, meat with high fat^{3,4} and lower consumption of fish rich in omega-3 fatty acids². Dietary macronutrient composition also appears to exert an effect on serum adiponectin^{5,6}. The composition of the diet may directly influence the molecular events that drive gene expression⁷ and the production of adipokines in adipocytes⁸.

Adiponectin is an adipocyte-derived protein known to modulate the effects of insulin⁹. Low adiponectin levels are associated with various components of metabolic syndrome, including visceral adiposity (VA), hyperlipidemia, insulin resistance (IR), type 2 diabetes¹⁰ and NAFLD^{9,11}. The discovery of this adipokine has introduced a potential mechanism to explain the pathogenesis of hepatic steatosis¹². However, reports that associate serum adiponectin and diet composition in the context of NAFLD were not found in the literature.

Given the increasing prevalence of NAFLD, the scarcity of studies addressing the association of dietary habits and the evidence from animal¹³ and human¹⁴ studies that high concentrations of adiponectin are associated with a protective effect against liver steatosis, our study investigated the relationship between adiponectinemia and macronutrients from the diet in obese women with NAFLD.

PATIENTS AND METHODS

Study design

A descriptive cross-sectional study was developed in the nutrition outpatient clinic of Julio Muller University Hospital from Mato Grosso Federal University at Cuiabá, Mato Grosso State, Brazil. This study was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and was formally approved by the Institutional Ethical Committee (Nº 346/07). Informed consent, as well as assent, was obtained from each patient.

The study included sixty obese women aged 20-50 years. Body mass index (BMI) ≥ 30 kg/m² was used as the initial criteria to identify the presence of obesity according to the

World Health Organization classification standards¹⁵. Exclusion criteria included a history of excessive alcohol intake (defined as mean daily consumption of pure ethanol above 20 g for at least the 6-month period before the study), use of drugs known to be associated with secondary NAFLD and other causes of chronic hepatic disease, such as viral or autoimmune hepatitis, α 1-antitrypsin deficiency, Wilson disease and hemochromatosis¹⁶.

Study measurements

Participant evaluation included an interview, anthropometric measurements, body composition, biochemical and clinical assessments, ultrasound (US) examination and serum adipokine levels.

Interview

A face-to-face interview was carried out in all cases by the same interviewer. The first part of the questionnaire included demographic data, health status, medication use, physical exercise, current alcohol intake and smoking status. The second part was a detailed qualitative food frequency questionnaire (FFQ). The FFQ included 13 food groups: dairy products, meat, eggs, vegetables (three groups: A (lettuce, watercress, endive, broccoli, onions, cabbage, cauliflower, gherkins, cucumbers, tomato), B (squash, zucchini, eggplant, beets, carrots, chayote, green pepper, okra, green beans), and C (potato, sweet potato, cassava), fruits, grains, sweets, chocolate, soft drinks, sugar and fried foods. For each food group, participants indicated their average frequency of consumption (daily, once a week, twice a week, three or more times per week, occasionally or never). “Frequent” intake of food was defined as daily, once a week, twice a week or three or more times per week. “Infrequent” intake of food was defined as occasionally or never.

Anthropometric measurements and body composition

Body weight was measured in light clothing and without shoes to the nearest half-kilogram. Height was measured to the nearest half-centimeter. Body mass index (BMI) was calculated as weight (kilograms) divided by height (meters) squared. Subjects with BMI greater than or equal to 30 Kg/m² were considered obese. Waist circumference was measured to the nearest half-centimeter at the narrowest point below the lower rib margin and the iliac crest; hip circumference was measured at the widest point between

the hips and buttocks. Body fat distribution was evaluated by waist-to-hip ratio (WHR) according to World Health Organization guidelines¹⁵.

Body fat percentage was analyzed using the Body Composition Monitor, Tanita Ironman InnerScan Model: BC-558. To obtain an accurate reading, each patient stood on the measuring platform without shoes and socks, ankles properly aligned with the electrodes of the measuring platform and the hand electrodes held with arms straight down, hands beside the body, without moving until the measurement was completed¹⁷.

Thickness measurements of visceral and subcutaneous fat (cm²) were obtained by ultrasound examination by a private US service, and all measurements were performed by the same examiner according to the method described by Ribeiro-Filho et al. (2003)¹⁸. Subcutaneous adiposity was defined as the distance between the skin and external face of the rectus abdominal muscle; visceral adiposity was defined as the distance between the internal face of the rectus abdominal muscle and the anterior wall of the aorta 1 cm below the navel. The comparison of the results was done according to Ribeiro-Filho et al. (2003)¹⁸. Nutritional status was based on the WHO¹⁵ recommendations.

Biochemical tests

Each participant underwent biochemical testing following a 12 h fast to measure liver enzymes, fasting serum lipid profile (Grundy et al. 2005)¹⁹, glucose (Trinder, 1969)²⁰ and insulin levels determined by the chemiluminescent method, C-reactive protein and serology for hepatitis. All biochemical assessments were performed in the Laboratory of Julio Muller University Hospital following standard methods.

The degree of IR was determined by the homeostatic model assessment insulin resistance (HOMA-IR)²¹ using the formula: $HOMA = \text{fasting insulin (mU/L)} \times \text{fasting glucose (mmol/L)} / 22.5$.

Cytokine and adipokine levels were measured in blood drawn from 41 women in the morning, in the same laboratory, after an overnight fast. The blood samples were immediately centrifuged and the serum samples were stored at -80°C until analysis, which was performed at the Laboratory of Biological Food Evaluation (UFMT). Serum levels were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit according to the manufacturer's instructions. The serum samples were quantified after dilution, and each measurement was performed in triplicate. Tumour necrosis factor- α (TNF- α) was quantified by using Human TNF- α ELISA MAXTM Deluxe Set from Biolegend

(San Diego, USA). Interleukin-6 (IL-6) levels were quantified by using Human IL-6 (Interleukin-6) ELISA Ready-SET-Go! from eBioscience, Inc (San Diego, USA). Leptin, adiponectin and resistin levels were measured with DuoSet ELISA Development kit from R&D Systems, Inc. (Minneapolis, USA) according to the manufacturer's manual. The absorbance was read at 450 nm within 30 minutes by Spectra Max 190. The calibration curves were constructed by plotting the net average absorbance of the standards on the Y-axis and the concentrations on the X-axis and drawing the best-fitting curve. Concentrations of the adipokines in each sample were calculated from the calibration curve with ORIGIN software v. 4.1. The correlation coefficients were linear in a concentration range between 45.86 and 466.45 pg/mL for TNF- α ($r = 0.99$); 5.66 and 9.74 pg/mL for IL-6 ($r = 0.98$); 6.33 and 328.32 ng/mL for leptin ($r = 0.99$); 0.13 and 1.66 ng/mL for adiponectin ($r = 0.99$); and between 2.87 and 79.35 ng/mL for resistin ($r = 0.99$).

Clinical examination

The women's blood pressure was measured by a nurse technician during the pre-consultation after at least five minutes of rest before the measurement. Blood pressure levels were classified according to normal standards, as described by Grundy et al. 2005¹⁹.

Radiological examination

Fatty liver was diagnosed by abdominal US. Although this technique has sensitivity for the detection of steatosis of 60-94% and specificity of 88-95%, the US has the advantage of being a low-cost assessment tool with no known risks; it is available in almost all cities and therefore can be considered a good method for tracking disease (Charatcharoenwitthaya & Lindor 2007)²². Ultrasound was performed in all subjects with the same equipment, Voluson 730 Expert (General Electric (GE), Áustria). The examination was performed after fasting for 12 hours in the morning and using the same image service and the same examiner. The diagnosis of NAFLD was based on the presence and degree of liver steatosis, which was classified as mild, moderate or severe according to the stratification proposed by Rumack et al. (2005)²³.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using Statistical Package for the Social Science version 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software. Continuous variables were expressed as mean $\pm$ standard error of mean (SEM) or median (minimum and maximum values), depending on assessment for Gaussian distribution. Data were analyzed by parametric or non-parametric tests, according to their distribution. To compare the means of variables between groups, we used the Student's t-test or Mann Whitney test, observing the nature of the distribution of the variables. For the analysis of linear correlation between continuous variables, data were log transformed, and the Linear Coefficient of Pearson was applied. Categorical data were presented in absolute and relative frequencies, and the comparison of data held the Chi-square test and Fisher Exact test, as indicated. The last tests were also used to determine the association between low adiponectin concentrations and dietary intake. For this purpose, an adiponectin concentration below the median of the whole group ($<0.35\text{ng/mL}$) was considered²⁴. To reject the null hypothesis, the value of $p \leq 0.05$ was used.

RESULTS

Characteristics of the patients

A total of 60 women were included in the study. **Table 1** shows the distribution of women according to age, prevalence and degree of obesity and NAFLD, and practice and type of preferred physical activity. Most patients were older than 39 years of age (51.7%), all patients were obese and most had obesity level 2 or greater (68.3%) (WHO,1998). Ultrasonography was able to diagnose hepatic steatosis in twenty-four women (40%); despite the limitations this diagnostic method twenty-one (35.0%) were diagnosed with mild steatosis and three (5.0%) with severe. Thirty-six women (60.0%) had normal liver function and were therefore designated as the control group. Irregular engagement in physical activity was prevalent (68.3%), and walking was the most commonly reported activity (26.7%).

Diabetes and dyslipidemia were significantly more frequent in the NAFLD group than in the control group ($p=0.030$ and $p=0.020$, respectively). The frequency of hypertension was not different between groups, ($p=0.330$); (data not shown).

Comparisons of demographic, anthropometrics data and body composition

Significant differences were found in measurements of WHR and visceral adiposity. The NAFLD group had significantly higher measures of WHR ($p=0.010$) and visceral adiposity ($p<0.001$) than the control group. No significant differences were found for age, BMI, waist circumference, subcutaneous adiposity or measures of body composition (water, bone, muscle and fat) between groups (**Table 2**).

Comparisons of biochemical and clinical data

Fasting serum glucose and insulin, HOMA-IR, alanine aminotransferase and gamma glutamyltransferase were significantly higher in NAFLD group ($p<0.001$). Serum concentrations of total cholesterol, very low density lipoprotein (VLDL), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), triacylglycerol (TAG), aspartate aminotransferase, C-reactive protein, and blood pressure were not different between groups (**Table 3**), but the diastolic pressure was marginally higher among those with NAFLD ($p=0.069$).

Comparisons of adipokines

Figure 1 shows serum concentrations of adipokines in both groups. Box plots demonstrate median values and minimum and maximum values for adiponectin, leptin, IL-6 and TNF- α for each group, and the bar graph demonstrates mean values and SEM (error bars) for resistin for each group. Fig.1A shows lower concentrations of adiponectin in the NAFLD group compared to the control group (0.16 (0.13 – 0.91) vs. 0.46 (0.20-1.66) ng/mL; $p=0.005$). As illustrated by figures 1B, 1C, 1D and 1E, no differences were found in serum concentrations of leptin (189.40 (6.33-328.33) vs. 266.10 (7.06-327.26) ng/mL; $p=0.267$), of resistin (22.42 ± 4.65 vs. 35.55 ± 5.33 ng/mL; $p=0.085$), of IL-6 (6.84 (5.66-9.74) vs. 6.59 (5.69-8.63) pg/mL; $p=0.527$) or of TNF- α (101.93 (79.27-185.65) vs. 94.55 (75.11-149.13) pg/mL; $p=0.266$).

Correlation of serum adiponectin with anthropometrics and body composition, biochemical and clinical parameters

Using bivariate analysis, serum adiponectin concentrations in the NAFLD group were correlated only to weight, subcutaneous adiposity, visceral adiposity, total cholesterol, VLDL, LDL, leptin and TNF- α . In the control group, serum adiponectin was correlated only to insulin, HOMA-IR, gamma glutamyltransferase and leptin. The

hypo adiponectinemia in the NAFLD group negatively correlated to total cholesterol ($r=-0.522$; $p=0.022$), VLDL ($r=-0.563$; $p=0.023$), LDL ($r=-0.469$; $p=0.049$) and serum TNF- α levels ($r=-0.655$; $p=0.002$), but positively correlated to weight ($r=0.512$; $p=0.025$), subcutaneous adiposity ($r=0.487$; $p=0.034$), visceral adiposity ($r=0.491$; $p=0.033$) and serum leptin levels ($r=0.690$; $p=0.002$). In the control group, hypo adiponectinemia correlated negatively to insulin ($r=-0.505$; $p=0.016$), HOMA-IR ($r=-0.460$; $p=0.031$) and gamma glutamyltransferase ($r=-0.479$; $p=0.024$) and positively to serum leptin levels ($r=0.467$; $p=0.038$). There was no correlation of serum adiponectin with other parameters.

Frequency of habitual food intake in NAFLD and control groups

According to the FFQ, no significant differences were found between groups for frequency of consumption of dairy products (83.3% NAFLD vs. 86.1% control; $p=0.999$), red meat (100.0% NAFLD vs. 91.7% control; $p=0.268$), white meat (91.7% NAFLD vs. 86.1% control; $p=0.691$), eggs (16.7% NAFLD vs. 27.8% control; $p=0.319$), A vegetables (87.5% NAFLD vs. 97.2% control; $p=0.292$), B vegetables (91.7% NAFLD vs. 91.7% control; $p=0.999$), C vegetables (62.5% NAFLD vs. 83.3% control; $p=0.068$), fruits (91.7% NAFLD vs. 86.1% control; $p=0.691$), grains (constant), beans (100.0% NAFLD vs. 86.1% control; $p=0.077$), sweets (41.7% NAFLD vs. 36.1% control; $p=0.665$), soft drinks (62.5% NAFLD vs. 80.5% control; $p=0.121$), chocolates (12.5% NAFLD vs. 8.3% control; $p=0.675$), sucrose (66.7% NAFLD vs. 83.3% control; $p=0.135$) or fried foods (50.0% NAFLD vs. 58.3% control; $p=0.525$). Low frequency of intake was observed in both groups for eggs and chocolates.

Association between low adiponectin concentration ($<0.35\text{ng/mL}$) and frequent intake according to FFQ of animal protein, simple carbohydrates and fats

Table 4 shows that lower concentrations of adiponectin were associated with a moderately frequent intake of sucrose in the NAFLD group and frequent intake in the control group ($p=0.045$ vs. $p=0.054$, respectively). Lower concentrations of adiponectin were also associated with infrequent fried food intake in the NAFLD group ($p=0.002$) and frequent intake in the control group ($p=0.046$). In the NAFLD group, there was no association between reduced adiponectin levels and the frequent intake of other foods. However, in the control group, the reduced concentrations of adiponectin were

associated with frequent consumption of milk ($p=0.054$), white meat ($p=0.054$), soft drinks ($p=0.054$), and the non-consumption of eggs ($p=0.054$) and sweets ($p=0.046$).

DISCUSSION

Hypoadiponectinemia occurred in all evaluated women, but these levels were significantly lower among NAFLD patients, a result seen in some studies^{16,25} while diverging from others^{26,27}. Hypoadiponectinemia has been implicated in the development of IR and various associated diseases²⁸. As the development of IR causes the accumulation of fat in the liver²⁹, lower adiponectin levels were expected to be related to the development of fatty liver. In the liver, adiponectin is considered to have insulin-sensitizing, antifibrogenic and anti-inflammatory properties by acting on hepatocytes, hepatic stellate cells, and hepatic macrophages (Kupffer cells), respectively³⁰. It acts through the activation of 5-adenosine monophosphate-activated protein kinase and peroxisome proliferator-activated receptor- α pathways and inhibition of toll-like receptor-4-mediated signaling³⁰. As a result, modifications in gene expression occur, which subsequently leads to decreased gluconeogenesis, decreased free fatty acid influx into the liver, increased free fatty acid oxidation and decreased de novo lipogenesis³⁰. By these mechanisms, hypoadiponectinemia contributes to the progression of hepatic steatosis. Different studies have reported negative correlations between hypoadiponectinemia and HOMA-IR^{16,31}, triacylglycerol (TAG) and total cholesterol³² and positive correlations between adiponectinemia and high density lipoprotein (HDL)²⁵. Our results showed negative correlation with total cholesterol levels, very low density lipoprotein (VLDL) and low density lipoprotein (LDL), confirming the association between reduced adiponectin concentrations and atherogenic lipid profile³³.

A strong negative correlation between hypoadiponectinemia and TNF- α levels and a positive correlation between hypoadiponectinemia and leptin levels were observed. As cited before, conditions such as visceral adiposity and IR reduce the levels of adiponectin, leading to a proinflammatory state and the generation of chronic injury factors like TNF- α and other acute phase proteins³⁴. It is believed that a high TNF- α level is another reason for the low concentrations of adiponectin in NAFLD³⁵. As adiponectin and TNF- α have opposite effects on insulin sensitivity and inflammation³⁶,

the balance between them may be important in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis (NASH).

The relationship between circulating leptin and adiponectin is inverted. In obesity, leptin concentrations are elevated, whereas adiponectin levels are reduced³⁷. Although there was a positive correlation between these adipokines in the NAFLD group, our results showed lower levels of adiponectin and elevated levels of leptin in obese women. We found great variability in serum leptin in the women studied. This may be related to hormonal changes, especially those of estradiol during the menstrual cycle³⁸.

It has been suggested that adiponectin concentration is mainly regulated by body composition because plasma concentration is negatively correlated with percentage of body fat³⁹. In our study, however, no correlation was observed with this parameter, although there were positive correlations between hypoadiponectinemia and body weight and subcutaneous and visceral adiposity. Although there was no inverse correlation with adiposity, our results confirm that circulating concentrations of adiponectin are decreased in obese humans^{10,37,40}. Among women with visceral obesity, Drolet et al. (2009)⁴¹ found that adiponectin release by omental adipocytes is significantly reduced, while subcutaneous adipocyte adiponectin release is unaffected. In addition, they demonstrated that adiponectin release by omental adipocytes is proportionately lower with increasing fat cell size in this depot³⁷. However, in the visceral adipose tissue, the adiponectin secretion can be stimulated by use of insulin or rosiglitazones (Motoshima et al. 2002)⁴².

Comparisons between groups showed no differences between serum concentrations of TNF- α , IL-6, leptin and resistin. Jarrar et al. (2008)²⁶ reported higher concentrations of TNF- α and IL-6 in the NAFLD group but similar levels of resistin. However, Lemoine et al. (2009)²⁷, found no significant differences in serum IL-6 and TNF- α receptor 1 between patients with NASH, simple steatosis and controls, but showed lower concentrations of leptin and a higher adiponectin/leptin ratio in the control group. Despite conflicting results, scientific studies^{43,44} are unanimous that the circulating levels of adipokines, with the exception of adiponectin, are elevated in obesity and in states of insulin resistance.

Analysis of the frequency of food consumption of women with and without NAFLD showed no differences for the various food groups. Kim et al. (2008)⁴ has shown that patients with NAFLD had a higher intake of foods with low nutritional value and foods high in salt, dairy products, meat, beans, and low consumption of fruits. These results are similar to those found in our study, except for fruit, where frequency of consumption was higher in the NAFLD group.

A study analyzing the food consumption of individuals with NAFLD showed increased consumption of soft drinks and meat in general, low intake of fish rich in omega-3 fatty acids and an association between diets rich in protein and sucrose with NAFLD². Another study⁴⁵ showed that diets rich in carbohydrates and low in fat were associated with increased liver damage. Among morbidly obese participants, Solga et al. (2004)⁴⁶ observed a high degree of inflammation associated with high carbohydrate intake compared with high fat intake. Although these studies have produced conflicting results, they support the concept that carbohydrates in the diet are more harmful than dietary fat in the pathogenesis of NAFLD in humans⁴⁷. Among obese, hyperinsulinemic individuals, high carbohydrate intake appears to increase *de novo* lipogenesis in the liver, while high fat intake reduces lipogenesis⁴⁸.

Linking dietary factors to hypoadiponectinemia, we found that in the NAFLD group, even a moderately frequent intake of sucrose and infrequent intake of fatty foods was associated with lower levels of adiponectin. Sucrose and fatty foods were the only nutrients associated with lower concentrations of adiponectin in the NAFLD and control groups. It is important to report that in the NAFLD group, even low frequency of consumption of fatty foods was associated with hypoadiponectinemia.

Reports in the literature show that hypoadiponectinemia is associated with diets high in carbohydrates^{5,49,50} and, in contrast, diets rich in unsaturated fats are associated with high concentrations of adiponectin^{5,49}. Unsaturated fats are ligands of peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ)⁵¹, whose activation has been directly linked to increased levels of adiponectin⁵². A diet rich in unsaturated fatty acids (FA) may therefore have direct effects on adiponectin levels. Another proposed mechanism is that diets low in fat and rich in carbohydrates lead to a redistribution of body fat depots from peripheral to central⁵³. However, in a study with normal weight and obese women,

evaluating the effects of low- and high-fat diets similar in energy content demonstrated that adiponectin levels varied according to insulin sensitivity among the obese women. By eating a diet rich in fat, insulin resistant obese women had lower levels of adiponectin compared to those more sensitive to the hormone⁵⁴. This may explain the association found between hypoadiponectinemia and fats, assuming that the median value of HOMA-IR of women in the present study indicated the state of insulin resistance.

In summary, hypoadiponectinemia in NAFLD was associated with dietary sucrose and fatty food intake, underscoring the important role of diet in the occurrence of this disease. In addition, results from the present study highlight the need for larger studies employing instruments to ensure adequate quantitative and qualitative assessment of the diet and including follow-up in the study design. Future studies may be able to establish a causal relationship between the variables, or could at least allow the application of statistical tests such as logistic regression analysis to control for possible confounding factors.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Keyla Aparecida Pontes Lopes Dias, Silvana Salomão Cury and Carlos Henrique Fregadolli for the excellent technical assistance and to the FAPEMAT and UFMT for the financial support. The authors report no conflict of interest.

REFERENCES

1. Cotrim HP, Andrade ZA, Parana R, Portugal M, Lyra LG, Freitas LA. Nonalcoholic steatohepatitis: a toxic liver disease in industrial workers. *Liver* 1999 Aug;19(4):299-304.
2. Zelber-Sagi S, Nitizan-Kaluski D, Goldsmith R, Webb M, Blendis L, Halpern Z, Oren R. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *J Hepatol*. 2007 Nov;47(5):711-17.
3. McDevitt RM, Bott SJ, Harding M, Coward WA, Bluck LJ, Prentice AM. De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women. *Am J Clin Nutr*. 2001 Dec;74(6):737-46.

4. Kim CH, Kallman JB, Bai CH, Pawloski L, Gewa C, Arsalla A, Sabatella ME, Younossi ZM. Nutritional assessments of patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Obes Surg.* 2010;20:154-60.
5. Pischon T, Girman CJ, Rifai N, Hotamisligil GS, Rimm EB. Association between dietary factors and plasma adiponectin concentrations in men. *Am J Clin Nutr.* 2005 Apr;81(4):780-6.
6. Krebs JD, Browning LM, McLean NK, Rothwell JL, Mishra GD, Moore CS, Jebb SA. Additive benefits of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and weight-loss in the management of cardiovascular disease risk in overweight hyperinsulinaemic women. *Int J Obes.* 2006;30(10):1535-44.
7. Duplus E, Glorian M, Forest C. Fatty acid regulation of gene transcription. *J Biol Chem.* 2000 Oct;275:30749-52.
8. Flachs P, Mohamed-Ali V, Horakova O, Rossmeisl M, Hosseinzadeh-Attar MJ, Hensler M, Ruzickova J, Kopecky J. Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed a high-fat diet. *Diabetologia.* 2006;49:394-7.
9. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 2001;7:947-53.
10. Havel PJ. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes.* 2004 Feb;53(Suppl 1):S143-S151.
11. Pagano C, Soardo G, Esposito W, Fallo F, Basan L, Donnini D, Federspil G, Sechi LA, Vettor R. Plasma adiponectin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol.* 2005 Jan;152:113-8.
12. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, Iasio R, Gentilcore E, Natale S, Cassader M, Rizzetto M, Pasquali R, Marchesini G. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 June;90(6):3498-3504.
13. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJS. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest.* 2003 July;112(1):91-100.
14. Méndez-Sánchez N, Chávez-Tapia NC, Villa AR, Sánchez-Lara K, Zamora-Valdés D, Ramos MH, Uribe M. Adiponectin as a protective factor in hepatic steatosis. *World J Gastroenterol* 2005 Mar;11(12):1737-41.

15. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Geneva: World Health Organization, 1998.
16. Savvidou S, Hytiroglou P, Orfanou-Koumerkeridou H, Panderis A, Frantzoulis P, Goulis J. Low serum adiponectin levels are predictive of advanced hepatic fibrosis in patients with NAFLD. *J Clin Gastroenterol*. 2009 Sept;43(8):765-72.
17. 2007 TANITA Corporation. All Rights Reserved.
18. Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Azjen S, Zanella MT, Ferreira SRG. Methods of estimation of visceral fat: advantages of ultrasonography. *Obes Res*. 2003 Dec;11(12):1488-94.
19. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Barry AF, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Jr, Spertus JA, Costa F. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an american heart association /national heart, lung, and blood institute scientific statement. *Circulation*. 2005 Oct;112(17):2735-52.
20. Trinder P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J Clin Pathol*. 1969;22(2):158-61.
21. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412-9.
22. Charatcharoenwittaya P, Lindor KD. Role of radiologic modalities in the management of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2007 Feb;11(1):37-54.
23. Rumack CM, Wilson SR, Charboneau JW. Diagnostic ultrasound. 3rd ed. Vol.1: Elsevier Mosby; 2005.p.95-97.
24. Marchesini G, Pagotto U, Bugianesi E, De Iasio R, Manini R, Vanni E, Pasquali R, Melchionda N, Rizzetto M. Low ghrelin concentrations in nonalcoholic fatty liver disease are related to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Dec;88(12):5674-9.
25. Jiang LL, Li L, Hong XF, Li YM, Zhang BL. Patients with nonalcoholic fatty liver disease display increased serum resistin levels and decreased adiponectin levels. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009 June;21(6):662-6.

26. Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, Fang Y, Elariny H, Goodmans Z, Chandhoke V, Younossi ZM. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008 Mar;27 (5):412-21.
27. Lemoine M, Ratziu V, Kim M, Maachi M, Wendum D, Paye F, Bastard JP, Poupon R, Housset C, Capeau J, Serfaty L. Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease. *Liv Inter.* 2009;1-7.
28. Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:2764-9.
29. Angulo P. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2002;1(1):12-9.
30. Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C, Tsiaousi E. The role of adiponectin in the pathogenesis and treatment on nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Obes Metab.* 2010 May;12(5):365-83.
31. Yokoyama H, Hirose H, Ohgo H, Saito I. Inverse association between serum adiponectin level and transaminase activities in Japanese male workers. *J Hepatol.* 2004 July;41(1):19-24.
32. Tilg H, Hotamisligil GS. Non-alcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology.* 2006 Sept;131:934-45.
33. Kazumi T, Kawaguchi A, Sakai K, Hirano T, Yoshino G. Young men with high-normal blood pressure have lower serum adiponectin, smaller LDL size, and higher elevated heart rate than those with optimal blood pressure. *Diabetes Care.* 2002 June;25(6):971-6.
34. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Jan;24:29-33.
35. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation.* 2000 Sept;102(11):1296-301.
36. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S,

- Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med*. 2002;8:731-7.
37. Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur J Endocrinol*. 2002 Aug;147:173-80.
 38. Asimakopoulos B, Milousis A, Gioka T, Kabouromiti G, Gianisslis G, Troussa A, Simopoulou M, Katargari S, Tripsianis G, Nikolettos N. Serum pattern of circulating adipokines throughout the physiological menstrual cycle. *Endocr J*. 2009;56(3):425-33.
 39. Hara T, Fujiwara H, Shoji T, Mimura T, Nakao H, Fujimoto S. Decreased plasma adiponectin levels in Young obese males. *J Atheroscler Thromb* 2003;10(4):234-38.
 40. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2006 July;116(7):1784-92.
 41. Drolet R, Bélanger C, Fortier M, Huot C, Mailloux J, Légaré D, Tchernof A. Fat depot-specific impact of visceral obesity on adiposity adiponectin release in women. *Obesity*. 2009 Mar;17(3):424-30.
 42. Motoshima H, Wu X, Sinha MK, Hardy VE, Rosato EL, Barbot DJ, Rosato FE, Goldstein BJ. Differential regulation of adiponectine secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Dec;87(12):5662-7.
 43. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2000 Dec;21(6):697-738.
 44. Dusserre E, Moulin P, Vidal H. Differences in mRNA expression of the proteins secreted by the adipocytes in human subcutaneous and visceral adipose tissues. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Jan;1500(1):88-96.
 45. Kang H, Greenson JK, Omo JT, Chao C, Peterman D, Anderson L, Foes-Wood L, Sherbondy MA, Cojeevaram HS. Metabolic syndrome is associated with greater histologic severity, higher carbohydrate, and lower fat diet in patients with NAFLD. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(10):2247-53.

46. Solga S, Alkhuraishe AR, Clark JM, Torbenson M, Greenwald A, Diehl AM, Magnuson T. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*. 2004 Oct;49(10):1578-83.
47. Lê KA, Bortolotti M. Role of dietary carbohydrate and macronutrients in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008 July;11(4):477-82.
48. Schwarz JM, Linfoot P, Dare D, Aghajanian K. Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high carbohydrate isoenergetic diets. *Am J Clin Nutr*. 2003 Jan;77(1):43-50.
49. Kasim-Karakas SE, Tsodikov A, Singh U, Jialal I. Responses of inflammatory markers to a low-fat, high-carbohydrate diet: effects of energy intake. *Am J Clin Nutr*. 2006 Apr;83(4):774-9.
50. Yeung EH, Appel LJ, Miller ER, Linda Kao WH. The effects of macronutrients intake on total and high molecular weight adiponectin: results from the OMNI-Heart Trial. *Obesity (Silver Spring)*. 2010 Aug;18(8):1632-7.
51. Ferré P. The biology of peroxisome proliferator-activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. *Diabetes*. 2004 Feb;53(Suppl1):S43-S50.
52. Kadowak T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*. 2005 May;26(3):439-51.
53. Paniagua JA, De La Sacristana AG, Romero I, Vidal-Puig A, Latre JM, Sanchez E, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects. *Diabetes Care*. 2007 July;30(7):1717-23.
54. Berk ES, Kovera AJ, Boozer CN, Pi-Sunyer FX, Johnson JA, Albu JB. Adiponectin levels during low-and high-fat eucaloric diets in lean and obese women. *Obes Res*. 2005 Sept;13(9):1566-71.

Table 1. Distribution of women studied according to age, prevalence and degree of obesity and NAFLD, and practice and type of physical activity

Variables	Frequency	Percentage
Age (years)	N	%
20 a 39	29	48.3
≥40	31	51.7
Total	60	100.0
BMI (Kg/m²)	N	%
Obesity Grade 1	19	31.7
Obesity ≥ Grade 2	41	68.3
Total	60	100.0
NAFLD (%)	N	%
Mild steatosis	21	35.0
Moderate steatosis	-	-
Severe steatosis	03	5.0
Normal liver	36	60.0
Total	60	100.0
Physical activity	N	%
Regular	19	31.7
Irregular	41	68.3
Total	60	100.0
Type of physical activity	N	%
None	41	68.3
Walking	16	26.7
Others*	03	5.0
Total	60	100.0

Values expressed in frequency (absolute and relative) of the number of women (n=60);

*others: gymnastics, dance, cycling. BMI: body mass index; NAFLD: nonalcoholic fatty liver disease

Table 2. Demographic, anthropometric and body composition analysis of NAFLD and control groups.

Variables	Groups		p value
	NAFLD (n=24)	Control (n=36)	
Age (years)	39.5±1.6	37.9±1.3	0.421
BMI (Kg/m ²)	39.4 (30.3-63.2)	36.7 (30.3-55.4)	0.172
Waist circumference (cm)	114.8 (93.6-167.0)	109.2 (93.1-135.8)	0.213
WHR	0.98±0.02	0.92±0.01	0.010*
Visceral adiposity (cm ²)	5.4 (3.7-8.5)	4.0 (2.6-7.7)	<0.001*
Subcutaneous adiposity (cm ²)	4.1±0.3	4.5±0.2	0.229
Water (%)	40.5 (34.3-63.0)	42.1 (33.8-48.7)	0.509
Bone (Kg)	2.7 (2.2-3.2)	2.6 (2.0-3.2)	0.245
Muscle (Kg)	50.5 (40.1-60.1)	49.1 (36.6-60.9)	0.253
Fat (%)	46.4 (22.8-55.0)	43.4 (34.5-55.9)	0.550

Values expressed in mean ± SEM (Student's t-test) and median (minimum and maximum values) Mann Whitney test *p<0.05. WHR: waist-to-hip ratio

Table 3. Biochemical and clinical analysis of NAFLD and Control groups

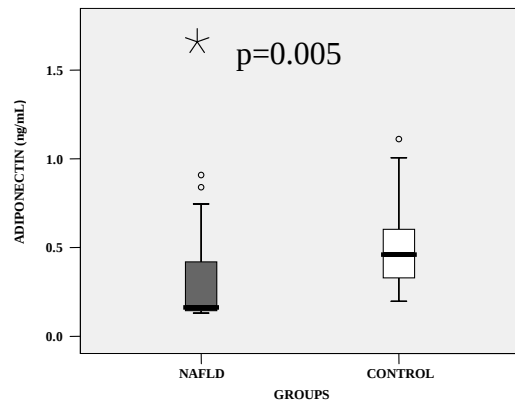
Variables	Groups		p value
	NAFLD (n=24)	Control (n=36)	
Glucose (mg/dL)	111.0 (77.0-315.0)	90.5 (75.0-159.0)	0.001*
Insulin (μ UI/mL)	21.4 (5.5-88.9)	10.8 (3.9-29.4)	<0.001*
HOMA-IR (<2)	6.3 (1.3-27.6)	2.4 (0.8-6.4)	<0.001*
Total cholesterol (mg/dL)	179.0 (127.0-268.0)	181.5 (124.0-297.0)	0.856
VLDL (mg/dL)	28.3 (12.6-70.0)	21.0 (9.4-50.6)	0.394
LDL (mg/dL)	110.5 (70.0-163.0)	119.4 (76.4-223.4)	0.213
HDL (mg/dL)	41.0 (21.0-60.0)	42.5 (28.0-55.0)	0.526
Triacylglycerol (mg/dL)	143.0 (51.0-491.0)	105.0 (47.0-253.0)	0.070
Alanine aminotransferase (UI/L)	27.0 (15.0-43.0)	17.0 (9.0-61.0)	0.001*
Aspartate aminotransferase (UI/L)	21.0 (12.0-32.0)	20.0 (4.0-43.0)	0.259
Gamma glutamyltransferase (U/L)	37.5 (18.0-89.0)	23.0 (13.0-128.0)	<0.001*
C-reactive protein (mg/dL)	4.7 (1.7-48.0)	5.8 (1.0-24.0)	0.722
Systolic blood pressure (mmHg)	120.0 (100.0-200.0)	120.0 (90.0-160.0)	0.244
Diastolic blood pressure (mmHg)	90.0 (60.0-120.0)	80.0 (60.0-100.0)	0.069

Values expressed in median (minimum and maximum values) Mann Whitney test

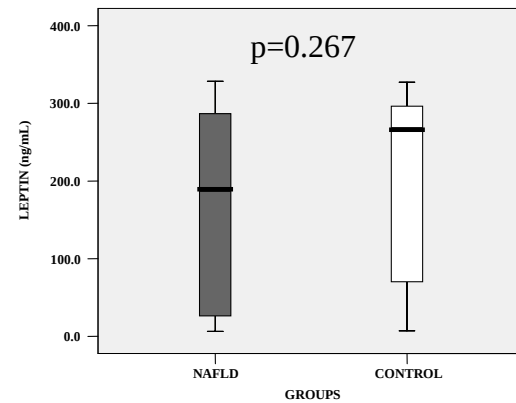
*p<0.05. HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance; VLDL: very low density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein and HDL: high density lipoprotein

Figure 1. Serum adipokines of NAFLD and control groups: (A) adiponectin, (B) leptin, (C) resistin, (D) interleukin-6, (E) tumour necrosis factor- α . Mann Whitney test (A, B, D, E) and Student's t-test (C).

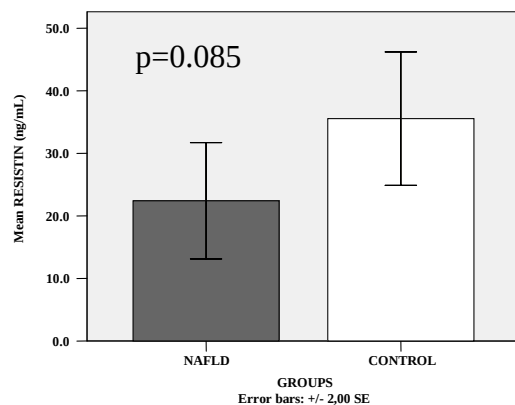
(A)



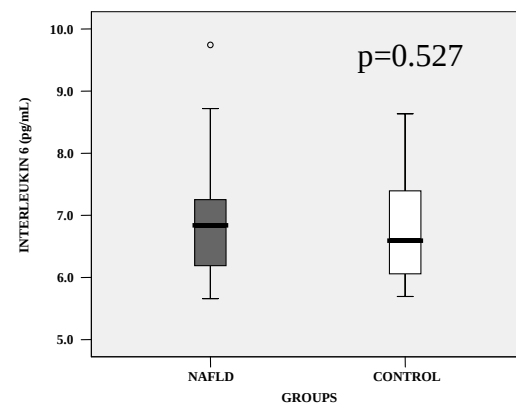
(B)



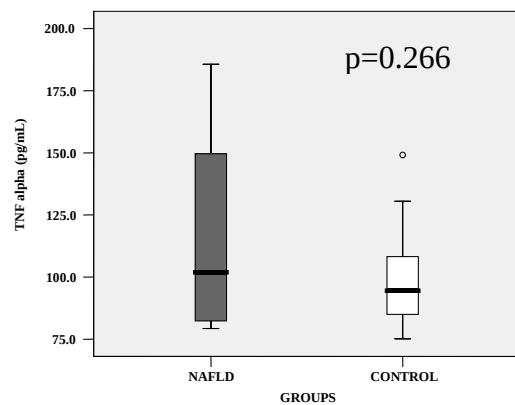
(C)



(D)



(E)



The box plot demonstrates median values and minimum and maximum values for adiponectin, leptin, IL-6 and TNF- α for each group, and the bar graph demonstrates mean values and SEM (errors bars) for resistin for each group (gray color represents NAFLD group and white color represents control group). * $p<0.05$ Mann Whitney test (Figure 1A)

Table 4. Association between reduced serum adiponectin concentration (<0.35 ng/mL) and frequent intake according to FFQ of animal protein, simple carbohydrates and fats.

Food intake	NAFLD (19)			Control (22)		
	Adiponectin <0.35ng/mL (14)			Adiponectin <0.35ng/mL (9)		
	FI (%)	IF (%)	p-value	FI (%)	IF (%)	p-value
Milk	71.4	28.6	0.530	100.0	0	0.054*
Red meat	100.0	0	-	100.0	0	0.240
White meat	100.0	0	-	100.0	0	0.054*
Eggs	7.1	92.9	0.999	0	100.0	0.054*
Sucrose	42.9	57.1	0.045*	100.0	0	0.054*
Sweets	14.3	85.7	0.084	0	100.0	0.046*
Soft drinks	85.7	14.3	0.272	100.0	0	0.054*
Chocolates	7.1	92.9	0.999	0	100.0	0.240
Fried foods	14.3	85.7	0.002**	100.0	0	0.046*

* $p \leq 0.05$ and ** $p < 0.01$ Fisher exact test. The frequent intake (FI) of food was defined as daily, once a week, twice a week or three or more times per week. The infrequent intake (IF) of food was defined as occasionally or never. No statistics are computed because the frequent intake of red and white meat is a constant in NAFLD group.

5.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Videla LA, Rodrigo R, Araya J, Poniachik J. Insulin resistance and oxidative stress interdependency in non-alcoholic fatty liver disease. *Trends Mol Med*. 2006 Dec;12:555-8.

Videla LA. Oxidative stress and insulin resistance as interdependent pathogenic mechanisms in non-alcoholic fatty liver disease associated with obesity. In: S. Alvarez, P. Evelson (Eds.), *Free Radical Pathophysiology*. 2008;369-85. Transworld Research Network, Kerala, India.

Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Eng J Med*. 2002;346:1221-31.

Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A, Vanni E, Bertelli C, Fatta E, Bignamini D, Marchesini G, Fargion S. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferases levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology*. 2008 Sept;48:792-8.

Anderson N, Borlak J. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis. *Pharmacol Rev*. 2008 Sept;60(3):311-57.

Reddy JK, Rao MS. Lipid metabolism and liver inflammation.II. Fatty liver disease and fatty acid oxidation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006 May;290(5):852-8.

Shen L, Fan JG, Shao Y, Zeng MD, Wang JR, Luo GH, Li JQ, Chen SY. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease among administrative officers in Shanghai: an epidemiological survey. *World J Gastroenterol*. 2003 May;9(5):1106-10.

Ruhl CE, Everhart, JE. Determinants of the association of overweight with elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003 Feb;15(2):209-12.

Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2003 May;98(5):960-7.

Browning J, Szczepaniaki L, Dobbins R, Nuremberg P, Horton J, Cohen J, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004 Dec;40:1387-95.

Amarapurkar D, Kamani P, Patel N, Gupte P, Kumar P, Agal S, Baijal R, Lala S, Chaudhary D, Deshpande A. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease: population based study. *Ann Hepatol*. 2007 July-Sept;6(3):161-3.

Li H, Wang YJ, Tan K, Zeng L, Liu L, Liu FJ, Zhou TY, Chen EQ, Tang H. Prevalence and risk factors of fatty liver disease in Chengdu, Southwest China. *Hepatobiliary & Pancreat Dis Inter*. 2009 Aug;8(4):377-82.

Ascha MS, Hanouneh IA, Lopez R, Tamimi TA, Feldstein AF, Zein NN. The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2010 June;51(6):1972-8.

Cotrim HP, Andrade ZA, Parana R, Portugal M, Lyra LG, Freitas LA. Nonalcoholic steatohepatitis: a toxic liver disease in industrial workers. *Liver*. 1999 Aug;19(4):299-304.

Lê KA, Bortolotti M. Role of dietary carbohydrate and macronutrients in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008 July;11(4):477-82.

Solga SF, Clark JM, Alkhuraishi AR, Torbenson M, Tabesh A, Schweitzer M, Diehl AM, Magnuson TH. Race and comorbid factors predict nonalcoholic fatty liver disease histopathology in severely obese patients. *Surg Obes Relat Dis*. 2005 Jan;1(1):6-11.

Willner IR, Waters B, Patil SR, Reuben A, Morelli J, Riely CA. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency, and severity of disease. *Am J Gastroenterol*. 2001 Oct;96:2957-61.

Vanni E, Bugianesi E, Kotronen A, De Minicis S, Yki Jarvinen H, Svegliati- Baroni G. From the metabolic syndrome to NAFLD or vice versa? *Dig Liver Dis*. 2010 May;42(5):320-30.

Clark JM, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease: an underrecognized cause of cryptogenic cirrhosis. *JAMA*. 2003;289(22):3000-4.

Younossi ZM. Review article: current management of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008 July;28(1):2-12.

Hossain P, Kavar B, El Nahas M. Obesity and diabetes in the developing world – a growing challenge. *N Engl J Med*. 2007 Jan;356(3):213-5.

Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 May;1-12.

Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, Yueh SK. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population of Taiwan: metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese adults. *J Clin Gastroenterol*. 2006 Sept;40(8):745-52.

Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, Sung IK, Sohn CI, Keum DK, Kim BI . Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21:138-43.

Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology*. 2005 July;42(1):44-52.

Jimba S, Nakagami T, Takahashi M, Wakamatsu T, Hirota Y, Iwamoto Y, Wasada T. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med*. 2005;22:1141-5.

Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Halpern Z, Oren R. Prevalence of primary non-alcoholic fatty liver disease in a population-based study and its association with biochemical and anthropometrics measures. *Liver Int.* 2006 Sept;26(7):856-63.

De Hewavisenthi SJ, Dassanayake AS, De Silva HJ. Clinical, biochemical and histological characteristics of a Sri Lanka population of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) patients. *Ceylon Med J.* 2005;50:133-6.

Dassanayake AS, Kasturiratne A, Rajindrajit S, Kalubowila U, Chakrawarthi S, de Silva AP, Makaya M, Mizoue T, Kato N, Wickremasinghe AR, De Silva HJ. Prevalence and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease among adults in an urban Sri Lanka population. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009 July;24(7):1284-8.

Mohan V, Farooq S, Deepa M, Ravikumar R, Pitchumoni CS. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in urban south Indians in relation to different grades of glucose intolerance and metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009 Apr;84(1):84-91.

Karnikowski M, Córdova C, Oliveira RJ, Karnikowisk MG, Nóbrega Ode T. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in Brazilian middle-age and older adults. *São Paulo Med J.* 2007 Nov;125(6):333-7.

Cotrin HP, Parise ER, Oliveira CPMS, Leite N, Martinelli A, Galizzi J, Silva RC, Mattos A, Pereira L, Amorim W, Ivantes C, Souza F, Costa M, Maia L, Pessoa M, Oliveira F. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Ann Hepatol.* 2011 Jan-Mar;10(1):33-7.

Neuschwander-Tetri BA, Unalp A, Creer MH. Influence of local reference populations on upper limits of normal for serum alanine aminotransferase levels. *Arch Intern Med.* 2008;168(6):663-6.

Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis.* 2010;28:155-61.

Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, Mullen KD, Cooper JN, Sheridan MJ. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002 Sept;123(3):745-50.

Charatcharoenwitthaya P, Lindor KD. Role of radiologica modalities in the management of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2007 Feb;11(1):37-54.

Puri P, Baillie RA, Wiest MM, Mirshahi F, Choudhury J, Cheung O, Sargeant C, Contos MJ, Sanyal AJ. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2007 Oct;46(4):1081-90.

Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annu Rev Pathol*. 2010 Feb;5:145-71.

Vasconcelos FAG. Tendências históricas dos estudos dietéticos no Brasil. *História, Ciência e Saúde-Manguinhos*. 2007 jan-mar;14(1):197-219.

Fisberg RM, Colucci ACA, Morimoto JM, Marchioni DML. Questionário de frequência alimentar para adultos com base em estudo populacional. *Rev Saúde Pública*. 2008;42(3):550-4.

Costa AGV, Priore SE, Sabarense CM, Franceschini SCC. Questionário de frequência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos metodológicos para avaliação de ingestão de lipídeos. *Rev Nutri*. 2006 Set-Out;19(5):631-41.

Ribeiro AC, Sávio KEO, Rodrigues MLCF, Costa THM, Schmitz BAS. Validação de um questionário de frequência de consumo alimentar para população adulta. *Rev Nutri*. 2006 Set-Out;19(5):553-62.

Kristal AR, Feng Z, Coates RJ, Oberman A, George V. Associations of race/ethnicity, education, and dietary intervention with the validity and reliability of a food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol*. 1997;146(10):856-69.

Matarazzo HCZ, Marchioni DML, Figueiredo RAO, Slater B, Eluf Neto J, Wünsch Filho V. Reprodutibilidade e validade do questionário de frequência de consumo alimentar utilizado em estudo caso-controle de câncer oral. *Rev Bras Epidemiol.* 2006;9(3):316-24.

Buettner R, Parhofer KG, Woenchhaus M, Wred CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, Bollheimer LC. Defining high-fat diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J. Mol. Endocrinol.* 2006 June;36:485-501.

Araya J, Rodrigo R, Videla LA, Thielemann L, Orellana M, Pettinelli P, Poniachik J. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n-6/n-3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Sci.* 2004 June;106(6):635-43.

Diraison F, Moulin P, Beylot M. Contribution of hepatic de novo lipogenesis and reesterification of plasma non-esterified fatty acids to plasma triglycerides synthesis during nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab.* 2003 Nov;29(5):478-85.

Donnelly KL, Smith CI, Schuwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parkes EJ. Sources of fatty acid stored in liver and secreted via lipoprotein in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest.* 2005 May;115(5):1343-51.

Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest.* 2004 July;114(2):147-52.

Schwarz JM, Linfoot P, Dare D, Aghajanian K. Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high-carbohydrate isoenergetic diets. *Am J Clin Nutr.* 2003 Jan;77(1):43-50.

Parks EJ, Skokan LE, Timlin MT, Dingfelder CS. Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults. *J Nutr.* 2008 June;138(6):1039-46.

Vos MB, Kimmons JE, Gillespie C, Welsh J, Blanck HM. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med*. 2008 July;10(7):160.

Teff KL, Elliott SS, Tschöp M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, Townsend RR, Keim NL, D'Alessio D, Havel PJ. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 June;89(6):2963-72.

Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM, Yerian LM, Neuschwander-Tetri BA. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008 Nov;295:G987-95.

Bergheim I, Weber S, Vos M, Kramer S, Volynets V, Kaserouni S, McClain CJ, Bischoff SC. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol*. 2008 June;48(6):983-92.

Thuy S, Ladurner R, Volynets V, Wagner S, Strahl S, Königsrainer A, Maier KP, Bischoff SC, Bergheim I. Nonalcoholic fatty liver disease in human is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *J Nutr*. 2008 Aug;138(8):1452-5.

Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM, Johnson RJ, Abdelmalek MF. Fructose consumption as a risk factor for nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008 June;48(6):993-9.

Assy N, Nasser G, Kamayse I, Nseir W, Beniashvili Z, Djibre A, Grosowski M. Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors. *Can J Gastroenterol*. 2008 Oct;22(10):811-6.

Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, Faga E, Silli B, Pagano G. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2003 Apr;37(4):909-16.

Toshimitsu K, Matsuura B, Ohkubo I, Niiya T, Furukawa S, Hiasa Y, Kawamura M, Ebihara K, Onji M. Dietary habits and nutrient intake in nonalcoholic steatohepatitis. *Nutrition*. 2007 Jan;23(1):46-52.

Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Goldsmith R, Webb M, Blendis L, Halpern Z, Oren R. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *J Hepatol*. 2007 Nov;47(5):711-7.

Kim CH, Kallman JB, Bai C, Pawloski L, Gewa C, Arsalla A, Sabatella ME, Younossi ZM. Nutritional assessments of patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Obes Surg*. 2010;20:154-60.

Solga S, Alkhuraishe AR, Clark JM, Torbenson M, Greenwald A, Diehl AM, Magnuson T. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*. 2004 Oct;49(10):1578-83.

Kang H, Greenson JK, Omo JT, Chao C, Peterman D, Anderson L, Foess-Wood L, Sherbondy MA, Cojeevaram HS. Metabolic syndrome is associated with greater histologic severity, higher carbohydrate, and lower fat diet in patients with NAFLD. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:2247-53.

Bruce KD, Cagampang FR, Argenton M, Zhang J, Ethirajan PL, Burdge GC, Bateman AC, Cluogh GF, Poston L, Hanson MA, McConnell JM, Byrne CD . Maternal high-fat feeding primes steatohepatitis in adult mice offspring, involving mitochondrial dysfunction and altered lipogenesis gene expression. *Hepatology*. 2009 Dec;50(6):1796-1808.

McCurdy CE, Bishop JM, Williams SM, Grayson BE, Smith MS, Friedman JE, Grove KL. Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *J Clin Invest*. 2009 Feb;119(2):323-35.

Lee JY, Hwang DH. The modulation inflammatory gene expression by lipids: mediation through Toll-like receptors. *Mol Cell*. 2006 Apr;21(2):174-85.

Malhi H, Bronk SF, Werneburg NW, Gores GJ. Free fatty acids induce JNK-dependent hepatocyte lipoapoptosis. *J Biol Chem*. 2006 Apr;281(17):12093-101.

Czaja MJ. Cell signaling in oxidative stress-induced liver injury. *Semin Liver Dis*. 2007;27(4):378-89.

Wang D, Wei Y, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology*. 2006 Feb;147(2):943-51.

Gao Z, Zhang X, Zuberi A, Hwang D, Quon MJ, Lefevre M, Ye J. Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol*. 2004 Aug;18(8):2024-34.

Solinas G, Naugler W, Galimi F, Lee MS, Karin M. Saturated fatty acids inhibit induction of insulin gene transcription by JNK-mediated phosphorylation of insulin-receptor substrates. *PNAS*. 2006 Oct;103(44):16454-9.

Petta S, Muratore C, Craxi A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Dig Liver Dis*. 2009 Sept;41(9):615-25.

Gregoire FM. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. *Exp Biol Med*. 2001;226(11):997-1002.

Prins JB. Adipose tissue as an endocrine organ. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2002 Dec;16(4):639-51.

Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(12):1821-30.

Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 May;115(5):911-9.

Tilg H, Hotamisligil GS. Nonalcoholic fatty liver disease: cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology*. 2006 Sept;131:934-45.

Méndez-Sánchez N, Chávez-Tapia NC, Villa AR, Sánchez-Lara K, Zamora-Valdés, Ramos MH, Uribe M. Adiponectin as a protective factor in hepatic steatosis. *World J Gastroenterol*. 2005 Mar;11(12):1737-41.

Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*. 2005 May;26(3):439-51.

Lihn AS, Bruun JM, He G, Pedersen SB, Jensen PF, Richelsen B. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. *Mol Cell Endocrinol*. 2004 Apr;219 (1-2):9-15.

Bruun JM, Lihn AS, Verdich C, Pedersen SB, Toubro S, Astrup A, Richelsen B. Regulation of adiponectin by adipose tissue derived-cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003 Sept;285(3):E527-E33.

Katja R, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med*. 2008 Nov-Dec;14(11-12):741-51.

Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*. 2002 Oct;8:1288-95.

Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Scala L, Zenari L, Falezza G. Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol*. 2006 June;64(6):679-83.

Jiang LL, Li L, Hong XF, Li YM, Zhang BL. Patients with nonalcoholic fatty liver disease display increased serum resistin levels and decreased adiponectin levels. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009;21:662-6.

Savvidou S, Hytioglou P, Orfanou-Koumerkeridou H, Panderis A, Frantzoulis P, Goulis J. Low serum adiponectin levels are predictive of advanced hepatic fibrosis in patients with NAFLD. *J Clin Gastroenterol*. 2009 Sept;43(8):765-72.

Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C, Tsiaousi E. The role of adiponectin in the pathogenesis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Obes Metab*. 2010 May;12(5):365-83.

Nazal L, Riquelme A, Solis N, Pizarro M, Escalona A, Burotto M, Méndez JI, Saint-Jean C, Concha MJ, Giovanni S, Awruch D, Morales A, Baudrand R, Carrasco G, Domínguez MA, Padilla O, Espinoza M, Miquel JF, Nervi F, Arrese M. Hypoadiponectinemia and its association with liver fibrosis in morbidly obese patients. *Obes Surg*. 2010;20:1400-7.

Shimada M, Kawara H, Ozaki K, Fukura M, Yano H, Tsuchishima M, Tsutsumi M, Takase S. Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(9):1931-8.

Younossi ZM, Jarrar M, Nugent C, Randhawa M, Afendy M, Stepanova M, Rafiq N, Goodman Z, Chandhoke V, Baranova A. A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Obest Surg*. 2008;18:1430-7.

Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology*. 2004;40(1):46-54.

Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, Fang Y, Elariny H, Goodmans Z, Chandhoke V, Younossi ZM. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008 Mar;27:412-21.

Lemoine M, Ratzu V, Kim M, Maachi M, Wendum D, Paye F, Bastard JP, Poupon R, Housset C, Capeau J, Serfaty L. Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease. *Liv Inter*. 2009;1-7.

Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, Mantzoros CS. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Inter Med*. 2010 Jan;152(2):93-100.

Marra F, Bertolani C. Adipokines in liver diseases. *Hepatology*. 2009 Sept;50(3):957-69.

Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C. Nonalcoholic fatty liver disease; The pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines. *Curr Mol Med*. 2009 Apr;9(3):299-314.

Lee Y, Wang MY, Kakuma T, Wang ZW, Babcock E, McCorkle K, Higa M, Zhou YT, Unger RH. Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. *J Biol Chem*. 2001 Feb;276:5629-35.

Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Liddle C, Samarasinghe D, George J. Serum leptin in NASH correlate with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity? *Hepatology*. 2002 Aug;36(2):403-9.

Mitchell M, Armstrong DT, Robker RL, Norman RJ. Adipokines: implications for female fertility and obesity. *Reproduction*. 2005 Nov;130(5):583-97.

Singhal NS, Patel RT, Qi Y, Lee YS, Ahima RS. Loss of resistin ameliorates hyperlipidemia and hepatic steatosis in leptin-deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008 Aug;295(2):E331-E8.

Pagano C, Soardo G, Pilon C, Milocco C, Basan L, Milan G, Donnini D, Faggian D, Mussap M, Plebani M, Avellini C, Federspil G, Sechi LA, Vettor R. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol*. 2006 Mar;91(3):1081-6.

Charlton M, Angulo P, Chalasani N, Merriman R, Viker K, Charatcharoenwitthaya P, Sanderson S, Gawrieh S, Krishnan A, Lindor K. Low circulating levels of dehydroepiandrosterone in histologically advanced nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2008 Feb;47(2):484-92.

Ruan H, Miles PDG, Ladd CM, Ross K, Golub TR, Olefsky JM, Lodish HF. Profiling gene transcription in vivo reveals adipose tissue as an immediate target of tumour necrosis factor- α : implications for insulin resistance. *Diabetes*. 2002 Nov;51(11):3176-88.

Crespo J, Cayon A, Fernández-Gil P, Hernández-Guerra M, Mayorga M, Domínguez-Díez A, Fernández-Escalante JC, Pons-Romero F. Gene expression tumour necrosis factor α and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2001 Dec;34(6):1158-63.

Abiru S, Migita K, Maeda Y, Daikoku M, Ito M, Ohata K, Nagaoka S, Matsumoto T, Takii Y, Kusumoto K, Nakamura M, Komori A, Yano K, Yatsushashi H, Egushi K, Ishibashi H. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2006 Feb;26(1):39-45.

Haukeland JW, Damas JK, Konopski Z, Loberg EM, Haaland T, Goverud I, Torjesen PA, Birkeland K, Bjoro K, Aukrust P. Systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2. *J Hepatol*. 2006 June;44(6):1167-74.

Park JW, Jeong G, Kim SJ, Kim MK, Park SM. Predictors reflecting the pathological severity of non-alcoholic fatty liver disease: comprehensive study of clinical and immune-histochemical finding in younger Asian patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007 Apr;22(4):491-7.

Tokushige K, Takakura M, Tsuchiya-Matsushita N, Taniai M, Hashimoto E, Shiratore K. Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis. *J Hepatol*. 2007 June;46(6):1104-10.

Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutri*. 2004;92:347-55.

Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Fève B. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*. 2006 Mar;17(1):4-12.

Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 Mar;83(3):847-50.

Nonogaki K, Fuller GM, Fuentes NL, Moser AH, Staprans I, Grunfeld C, Feingold R. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinology*. 1995 May;136(5):2143-9.

George J, Liddle C. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and potential for nuclear receptors as therapeutic targets. *Mol Pharm*. 2008;5(1):49-59.

Seo YS, Kim JH, Jo NY, Choi KM, Baik SH, Park JJ, Kim JS, Byun KS, Bak YT, Lee CH, Kim A, Yeon JE et al. PPAR agonists treatment is effective in a nonalcoholic fatty liver disease animal model by modulating fatty-acid metabolic enzymes. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Jan;23(1):102-9.

Fabbrini E, Mohammed BS, Magkos F, Korenblat KM, Patterson BW, Klein S. Alterations in adipose tissue and hepatic lipid kinetics in obese men and women with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2008 Feb;134(2):424-31.

Aronis A, Madar Z, Tirosh O. Mechanism underlying oxidative stress-mediated lipotoxicity: exposure of JJ74.2 macrophages to triacylglycerols facilitates mitochondrial reactive oxygen species production and cellular necrosis. *Free Radical Biol Med*. 2005 May;38(9):1221-30.

Maher JJ, Leon P, Ryan JC. Beyond insulin resistance: Innate immunity in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2008 Aug;48(2):670-8.

Marchesini G, Moscatiello S, Domizio SD, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Nov;93(11):S74-S80.

Thomas EL, Hamilton G, Patel N, O'Dwyer R, Dore CJ, Goldin RD, Bell JD, Taylor-Robinson SD. Hepatic triglyceride content and its relation to body adiposity: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study. *Gut.* 2005;54:122-7.

Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, Gambino R, Cassader M, Baldi S, Ponti V, Pagano G, Ferrannini E, Rizzetto M. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms. *Diabetologia.* 2005;48(4):634-42.

Adams LA, Angulo P. Recent concepts in non-alcoholic fatty liver disease. *Diabet Med.* 2005;22:1129-33.

Niaz A, Ali Z, Nayyar S, Fatima N. Prevalence of NAFLD in healthy and Young male individuals. *ISRN Gastroenterology.* 2011;1-4.

Méndez-Sánchez N, Arrese M, Zamora-Valdés D, Uribe M. Current concepts in the pathogenesis fatty liver disease. *Liver Int.* 2007 May;27(4):423-33.

Musso G, Gambino R, Cassader M. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Prog Lipid Res.* 2009 Jan;48(1):1-26.

ANEXOS

Termo de Consentimento

Eu....., fui informado dos objetivos, procedimentos, riscos e benefícios desta pesquisa, descritos acima.

Entendo que terei garantia de confidencialidade, ou seja, que apenas dados consolidados serão divulgados e ninguém além dos pesquisadores terá acesso aos nomes dos participantes desta pesquisa. Entendo também, que tenho direito a receber informações adicionais sobre o estudo a qualquer momento, mantendo contato com o pesquisador principal. Fui informado ainda, que a minha participação é voluntária e que se eu preferir não participar ou deixar de participar deste estudo em qualquer momento, isso NÃO me acarretará qualquer tipo de penalidade.

Compreendendo tudo o que me foi explicado sobre o estudo a que se refere este documento, concordo em participar do mesmo.

Assinatura do participante

(ou do responsável, se menor):

Assinatura do pesquisador principal:

Pesquisador Principal:

Profª Drª Maria Helena Gaíva Gomes da Silva

Universidade Federal de Mato Grosso

Faculdade de Nutrição/Departamento de Alimentos e Nutrição

Telefones: (65) 3615-8814, 3615-8816, 3615-8811

Em caso de necessidade, contate (nome do pesquisador) no (endereço, telefone, e-mail)

Informações sobre o projeto fazer contato com o CEP do HUJM: fone: (65) 3615 7254.

Data (Cidade/dia mês e ano) _____ de _____ de 2009.

**PROTOCOLO DE DIAGNÓSTICO DE DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA
NÃO ALCOÓLICA**

Data ____/____/____

Nº do registro: _____

Nome: _____

Data de nascimento ____/____/____ Idade: _____ Sexo: _____

Endereço:

Telefone:

Profissão : _____ Procedência: _____ Estado Civil: _____

Nº de Gestações: _____ Nº de Filhos: _____ PA:

1. QUEIXA PRINCIPAL

2. HISTÓRIA DA DOENÇA (início, internações, perda de apetite, edema, ganho de peso, emagrecimento, evolução, complicações, sintomas gerais)

Observações:

3. MEDICAMENTOS (metaformina, vitamina E, tiazolidinediona e outros)

4. SINTOMAS GASTROINTESTINAIS (persistem por mais de duas semanas)

Sintomas	Sim	Não
Dificuldade para mastigar		
Dificuldade para deglutir		
Odinofagia		
Náusea		
Dispepsia		
Distensão abdominal		
Vômitos		

5. TRATO INTESTINAL (evacuações, frequência, consistência, obstipação, diarreia)

6. TRATO URINÁRIO

Observações:

7. EXAME FÍSICO

Aspectos físicos	Sim	Não
Ascite		
Edema de tornozelo		

Observações:

8. ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

Pessoais:

Familiares:

Cirúrgicos:

Observações:

9. HÁBITOS GERAIS

Hábitos	Tabagismo	Etilismo	Exercício físico
Sim			
Não			
Ex usuário/praticante			
Início			
Frequência			
Quantidade			
Tipo			

Observações:

10. HÁBITOS ALIMENTARES

Alimentos	Tipo	Diária	1x/semana	2x/semana	3x/semana ou mais	Esporádico	Nunca
Leite e derivados							
Carnes e ovos							
Vegetal “A”							
Vegetal “B”							
Vegetal “C”							
Frutas							
Cereais							
Leguminosas							
Doces							
Chocolate							
Refrigerantes							
Sacarose							
Frituras							

Método de cocção:

Temperos:

() naturais

() artificiais

Quais?

Número de refeições/dia e local:

Outras refeições fora do horário normal:

Aporte de sal:

Gorduras:

Água:

Hábitos, tabus, alergia ou intolerância alimentar:

Observações:

11. PERFIL ANTROPOMÉTRICO

Alteração de peso em alguma fase da vida:

- () infância
 () adolescência
 () adulta

Mudança no peso corpóreo:

a) Peso habitual (Kg):

b) Peso atual (Kg):

c) Alteração de peso nos últimos 6 meses:

Altura (cm)		Gordura corpórea (%)	
Peso (Kg)		Água corpórea (%)	
IMC (Kg/m ²)		Massa óssea (Kg)	
Circunferência da cintura (cm)		Massa muscular (Kg)	
Circunferência do quadril (cm)			
Razão cintura /quadril			

Observações:

12. AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Exames	Parâmetros	Valores
Glicemia (jejum)	Glicose (mg/dl)	
Insulina (jejum)	Insulina (μUI/ml)	
Modelo de avaliação homeostática de glicose (HOMA)	HOMA-IR (<2)	
Lipídeos séricos (jejum)	Colesterol total (mg/dl)	
	Colesterol HDL (mg/dl)	
	Colesterol VLDL (mg/dl)	
	Colesterol LDL (mg/dl)	
	Triacilglicerol (mg/dl)	
Teste para hepatite viral	Hepatite B (HbsAg)	
	Hepatite C (HCV)	
Enzimas hepáticas	Alanina aminotransferase - ALT (UI/L)	
	Aspartatoaminotransferase - AST (UI/L)	
	Gamaglutamiltranspeptidase – GAMA (U/L)	
Concentrações hormonais séricas	Insulina (μUI/ml)	
	Leptina (ng/ml)	
	Adiponectina (ng/ml)	
	Resistina (ng/ml)	
Marcadores inflamatórios	Interleucina 6 (pg/ml)	
	Fator de necrose tumoral α (pg/ml)	
	Proteína C reativa (mg/dl)	

Observações:

13. ULTRASSONOGRAFIA ABDOMINAL

a) Adiposidade visceral (cm²):

b) Adiposidade subcutânea (cm²):

c) Presença de esteatose:

d) Grau de esteatose:

Observação:

14. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

15. DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL

Nutricionista