



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

**FABIO CAVALHEIRO DORIA**

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS HEPÁTICAS EM RATOS  
SUBMETIDOS À OPERAÇÃO DE DERIVAÇÃO JEJUNOILEAL**

***STUDY OF HEPATIC HISTOLOGICAL CHANGES IN RATS SUBMITTED TO  
JEJUNOILEAL BYPASS OPERATION***

**CAMPINAS**

**2016**

**FABIO CAVALHEIRO DORIA**

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS HEPÁTICAS EM RATOS  
SUBMETIDOS À OPERAÇÃO DE DERIVAÇÃO JEJUNOILEAL**

**STUDY OF HEPATIC HISTOLOGICAL CHANGES IN RATS SUBMITTED TO  
JEJUNOILEAL BYPASS OPERATION**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

*Thesis presented to the Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas - UNICAMP, as part of the requisite criteria for obtainment of the Master's degree in Sciences.*

**ORIENTADOR: Prof. DR. NELSON ADAMI ANDREOLLO**

**CO-ORIENTADOR: Profa. Dra. ELAINE CRISTINA DE ATAÍDE**

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO  
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO  
ALUNO FABIO CAVALHEIRO DORIA, ORIENTADO PELO  
PROF. DR. NELSON ADAMI ANDREOLLO

**CAMPINAS  
2016**

**Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s):** Não se aplica.

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas Maristella  
Soares dos Santos - CRB 8/8402

D733e Doria, Fabio Cavalheiro, 1973-  
Estudo das alterações histológicas hepáticas em ratos submetidos à operação de derivação jejunoileal / Fabio Cavalheiro Doria. – Campinas, SP : [s.n.], 2016.

Orientador: Nelson Adami Andreollo.  
Coorientador: Elaine Cristina de Ataíde.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Ratos Wistar. 2. Derivação jejunoileal. 3. Fígado gorduroso. 4. Obesidade mórbida. I. Andreollo, Nelson Adami, 1951-. II. Ataíde, Elaine Cristina de, 1975-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Study of hepatic histological changes in rats submitted to jejuileal bypass operation

**Palavras-chave em inglês:**

Rats, Wistar

Jejunoileal bypass

Fatty liver

Obesity, Morbid

**Área de concentração:** Fisiopatologia Cirúrgica

**Titulação:** Mestre em Ciências **Banca**

**examinadora:**

Nelson Adami Andreollo [Orientador]

José Luiz Braga de Aquino

Elinton Adami Chaim

**Data de defesa:** 26-02-2016

**Programa de Pós-Graduação:** Ciências da Cirurgia

# **BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO**

**FABIO CAVALHEIRO DORIA**

---

**ORIENTADOR: PROF. DR. NELSON ADAMI ANDROLLO**

**COORIENTADOR: PROFA. DRA. ELAINE CRISTINA DE ATAÍDE**

---

## **MEMBROS:**

**1. PROF. DR. NELSON ADAMI ANDREOLLO**

**2. PROF. DR. JOSÉ LUIZ BRAGA DE AQUINO**

**3. PROF. DR. ELINTON ADAMI CHAIM**

---

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

**Data: DATA DA DEFESA [26/02/2016]**

*A meus pais, José Carlos e Vera Lucia, que não mediram esforços e com muito sacrifício me proporcionaram concretizar o sonho de me tornar médico.*

*A Raquel Ferreira Ferraz do Lago Doria, amada companheira, por todo o amor, carinho e dedicação, junto com meus filhos Pedro e Camila são a pedra fundamental e a razão da minha existência.*

*Aos meus irmãos, Marcelo, Renato e Eduardo que muitas vezes abdicaram da minha presença, pela profissão e pela distância em que vivemos, mas sempre muito unidos no coração.*

*A minha tia Mary, minha segunda mãe, por todo amor e carinho.*

*Ao meu tio Cyrillo, pioneiro na família a trilhar os caminhos da medicina, um exemplo a ser seguido.*

*Muitíssimo Obrigado*

*“ Isso é um sonho, bem sei mas quero continuar a sonhar ”*

**Nietzsche**

## AGRADECIMENTOS

À **Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)** e ao **Hospital Estadual de Sumaré (HES)** pela receptividade e credibilidade depositada, por proporcionar meu desenvolvimento com médico e cirurgião.

Ao **Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo**, Professor Titular do Departamento de Cirurgia, de Moléstias do Aparelho Digestivo (FCM-UNICAMP), pelo privilégio de tê-lo como orientador e amigo. Por ter contribuído com tamanha intensidade para minha formação profissional. Exemplo de conhecimento e profissionalismo. Minha eterna gratidão.

A **Profa. Dra. Elaine Cristina Ataíde**, Professora do Departamento de Cirurgia, Grupo de Cirurgia de Fígado, Hipertensão Portal e Transplantes (FCM-UNICAMP), co-orientadora e amiga. Agradeço pela amizade consolidada ao longo destes anos de convivência. Muitos plantões, muito trabalho árduo e graças a Deus muitas alegrias compartilhadas.

A **Marina Rachel de Araújo**, bióloga, amiga, sempre disposta a ajudar. Muito acolhedora, sempre com um sorriso no rosto. Minha eterna gratidão.

Aos grandes amigos, companheiros e sócios **André Canesso Pierro e Celso de Oliveira**, Médicos Cirurgiões, com quem tive o privilégio de conviver ao longo destes últimos anos. A nossa amizade torna os meus dias de trabalho mais fáceis e prazerosos.

A **Profa. Dra. Cecília Amélia Fazzio Escanhoela**, professora Livre Docente do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual de Campinas e a **Dra. Larissa Bastos Eloy da Costa**, pelo magnífico trabalho realizado nas análises histológicas.

A todos os **funcionários** do Núcleo de Medicina Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pelos cuidados com nossos experimentos.

Aos **funcionários** do Laboratório de Anatomia Patológica do Gastrocentro da Universidade Estadual de Campinas, responsáveis pela confecção das lâminas para análise histológica.

A **Cleide Aparecida Moreira Silva**, pelo brilhante trabalho realizado na análise estatística.

Aos **animais** utilizados nesta pesquisa, meu eterno respeito.

A **Faculdade de Medicina de Sorocaba da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo** por ter sido minha primeira casa e proporcionado uma sólida formação técnica e humanística como médico e cirurgião, possibilitando que pudesse galgar meus passos seguintes.



## RESUMO

Nos primórdios da cirurgia bariátrica, quando se utilizava a derivação jejunoileal, houveram evidências de piora do padrão histológico hepático, na evolução da doença hepática gordurosa não alcoólica. Em contrapartida, atualmente quando se utiliza técnicas com menores níveis de disabsorção, o que se observa são significativas melhoras nos padrões histológicos hepáticos. O objetivo dessa pesquisa foi analisar as alterações histológicas hepáticas e avaliação ponderal dos animais após utilização da técnica de derivação jejunoileal em diferentes níveis de disabsorção. Quarenta e quatro ratos machos Wistar, não obesos, pesando entre 359-543 g foram divididos em quatro grupos, onze ratos tiveram apenas manipulação intestinal (Sham), e os demais animais tiveram o intestino seccionado a 5 cm da junção duodeno-jejunal, sendo que em doze a derivação jejunoileal, mediante anastomose látero-lateral, foi realizada no íleo terminal a 2 cm da válvula ileocecal, em onze animais a mesma anastomose foi realizada a 30 cm da válvula ileocecal e em dez animais a anastomose foi a 60 cm da válvula ileocecal. Todos os animais foram submetidos à biópsia hepática no intra operatório. Após 150 dias de observação, os animais foram submetidos a nova biópsia hepática. Para as avaliações histológicas foram empregando as colorações de hematoxilina-eosina, tricrômico de Masson e de Pearls. Os parâmetros avaliados foram a esteatose macrovesicular, esteatose microvesicular, balonização hepatocelular, inflamação acinar, inflamação portal, pseudo-inclusão nuclear de glicogênio, fibrose hepática, sobrecarga de ferro e esteato-hepatite. Os resultados e conclusões finais sugerem que não houve correlação significativa entre as alterações histológicas hepáticas com os diferentes níveis de derivação jejunoileal. Houve correlação entre a porcentagem de perda ponderal com os diferentes níveis de derivação sendo maior a perda ponderal quanto mais distal a anastomose jejunoileal ( $p < 0,0001$ ).

Palavras chaves: Ratos Wistar, derivação jejunoileal, fígado gorduroso, obesidade mórbida.

## ABSTRACT

In the early days of Bariatric Surgery, when it used the jejunoileal bypass, there was evidence of worsening of liver histological pattern in the evolution of non-alcoholic fatty liver disease. However, currently when using techniques with lower levels of disabsorção, what happens are significant improvements in liver histological patterns. The objective of this research was to analyze the histological changes in the liver and assessment of the animals weight after using the jejunoileal bypass technique in different levels of disabsortion. Forty-four Wistar male rats, not obese, weighing between 359-543 g were divided into four groups, eleven mice had intestinal handling only (Sham), and the remaining animals were gut sectioned to 5 cm duodenal-jejunal junction, and in twelve deriving jejunoileal by side-to-side anastomosis, was held at the terminal ileum to 2 cm from the ileocecal valve, in eleven animals the same anastomosis was performed at 30 cm from the ileocecal valve and in ten animals anastomosis was the 60 cm from the ileocecal valve. All animals were submitted to liver biopsy in the intra operative. After 150 days of observation, the animals underwent new liver biopsy. For histological evaluations were employing the colorations of hematoxylin-eosin, Masson trichomic and Pearls. The parameters evaluated were the macrovesicular steatosis, microvesicular steatosis, hepatocellular ballooning, acinar inflammation, portal inflammation, nuclear pseudo inclusion of glycogen, liver fibrosis, iron overload and steatohepatitis. The results and conclusions suggest that there was no significance correlation between histological changes in the liver with the different levels of jejunoileal bypass. There was a correlation between the percentages of weight loss with different levels of derivation being greater weight loss the more distal jejunoileal anastomosis ( $p < 0.0001$ ).

**Keywords:** Rats, Wistar, jejunoileal bypass, fatty liver, obesity, morbid.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anastomose jejunoileal, modelo desenvolvido por Brystol et al.....	28
Figura 2. Anatomia do aparelho digestivo do rato Wistar.....	29
Figura 3. Anastomose jejunoileal.....	30
Figura 4. Valor médio e desvio padrão do peso em cada grupo.....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variação de peso dos animais no pré operatório e controle pós seguimento...	37
Tabela 2. Média de peso ajustadas.....	38
Tabela 3. Análise descritiva das variáveis entre os grupos por frequência de aparecimento nas amostras colhidas na realização da cirurgia.....	40
Tabela 4. Análise descritiva das variáveis entre os grupos por frequência de aparecimento nas amostras colhidas no dia da eutanásia do animal.....	42
Tabela 5. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável esteatose microvesicular.....	44
Tabela 6. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável balonização hepatocelular.....	45
Tabela 7. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável inflamação acinar /intensidade.....	46
Tabela 8. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável inflamação portal / intensidade.....	47
Tabela 9. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável estadiamento.....	48
Tabela 10. Equivalência entre a idade do rato e ser humano.....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AVC	Acidente vascular cerebral
CEMIB	Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DJ	Derivação jejunoileal
DJ2VI	Derivação jejunoileal à 2cm da válvula ileocecal
DJ30VI	Derivação jejunoileal à 30cm da válvula ileocecal
DJ60VI	Derivação jejunoileal à 60cm da válvula ileocecal
EHGNA	Esteato hepatite não alcoólica
EEG	Equação de estimacão generalizadas
IMC	Índice de massa corpórea
Kg	Quilograma
m <sup>2</sup>	Metro quadrado
Mg	Miligramas
NAS <i>score</i>	<i>Score</i> de atividade da DHGNA
RI	resistência insulínica
SAS <i>system</i>	<i>Statistical Analysis system</i>
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
USA	Estados Unidos da América
VI	Válvula ileocecal

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
2. OBJETIVOS .....	24
3. MÉTODO .....	25
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5. RESULTADOS.....	37
6. DISCUSSÃO.....	49
7. CONCLUSÃO.....	57
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
9. APÊNDICES.....	65

# 1.INTRODUÇÃO

## 1.1 CONCEITOS GERAIS

O tratamento cirúrgico para obesidade (cirurgia bariátrica) é realizado desde 1952, a primeira a cirurgia descrita foi a derivação jejunoileal de Linner, Kremen e Nelson (1). Nesta técnica eram anastomosados os primeiros 35cm de jejuno aos últimos 10cm de íleo, restando, portanto, apenas 45cm de alça comum. Mais tarde, Payne et al. (2) e Scott et al. (3) propuseram a derivação jejunoileal termino lateral e termino terminal respectivamente. Em ambos os procedimentos foram anastomosados os primeiros 35cm de jejuno aos últimos 10cm de íleo, restando, portanto, apenas 45cm de alça comum.

A cirurgia de derivação jejunoileal, popular nas décadas de 1960 e 1970, obteve importante sucesso na perda de peso criando uma síndrome do intestino curto (4). Há especulações que o total de derivações jejunoileal realizadas nos Estados Unidos e ao redor do mundo varie entre 25.000 a mais de 100.000 casos (5).

No Brasil, o tratamento cirúrgico da obesidade, iniciou-se na década de 1970, com o professor Salomão Azar Chaib e posteriormente professor Artur Belarmino Garrido Jr., utilizando a derivação jejunoileal com a técnica de Payne (6,7).

Nos primórdios da cirurgia bariátrica, quando se utilizava a derivação jejunoileal, houve evidências de piora do padrão histológico hepático em pacientes submetidos a derivação jejunoileal, com evolução da DHGNA, EHNA e fibrose (8). Assim sendo, foi um procedimento abandonado devido a diferentes graus de esteatose e falência hepática, dentre outras complicações (4,9).

Pouco se sabia sobre os efeitos da disabsorção sobre o fígado, acreditava-se ser multifatorial incluindo má absorção de gordura e proteína em relação a proporção das calorias absorvidas na forma de carboidratos, supercrescimento bacteriano principalmente anaeróbios na porção exclusiva do intestino e levando a lesão hepática (10).

Ao rever os dados de literatura, evidenciamos que todos os pacientes submetidos à derivação jejunoileal que evoluíram com lesão hepática ou até falência hepática apresentavam lesões prévias, que se exacerbavam no pós-operatório, sugerindo que essas lesões não foram causadas pela disabsorção (8,11,12).

Estudo realizado por Haines et al. em 1981, com pacientes submetidos a derivação jejunoileal, com biópsia hepática intraoperatória, que apresentavam fibrose central na análise histológica hepática, tinham maior risco de desenvolver esteatonecrose e cirrose. Observaram também que essas lesões ocorreram em pacientes com maior idade e com maior perda de peso pós-operatória (11).

Achados histológicos obtidos em biópsias hepáticas de 88 pacientes submetidos a derivação jejunoileal, sugerem que existe uma lesão hepática causada pela obesidade, que se exacerba no primeiro ano após cirurgia (12).

Vyberg et al., avaliaram 34 pacientes com obesidade mórbida, submetidos a derivação jejunoileal. As biópsias hepáticas foram colhidas no intraoperatório, 5 e 9 meses pós cirurgia. Os pacientes foram divididos em grupos, sendo o grupo A com esteatose leve, o grupo B com esteatose moderada, o grupo C com esteatohepatite (esteatose + inflamação lobular) e o grupo D com esteatofibrose (esteatose + fibrose pericelular). Todos os grupos apresentaram progressão das lesões pré existentes. Em 32 % dos pacientes com severa esteatose, esteatohepatite ou fibrose septal no pré operatório, ao longo do seguimento apresentaram corpúsculos de Mallory, sendo que apenas pacientes com fibrose pericelular e corpúsculos de Mallory desenvolveram desarranjo da arquitetura, com 3 deles evoluindo para cirrose. Concluiu-se que a progressão da lesão hepática parece ser reflexo do agravamento da lesão pré-existente (8).

Apesar da derivação jejunoileal ser um procedimento proscrito, segundo resolução do Conselho Federal de Medicina publicada em 2005 (13), temos cirurgias onde se utilizam graus mais acentuados de disabsorção são propostas como opção de tratamento cirúrgico da obesidade e algumas utilizadas atualmente como a derivação biliopancreática ou *duodenal switch* (14).



Pareja et al em 2005, em estudo com 41 pacientes com by-pass gastrojejunal inicialmente, com perda de peso insuficiente e que foram submetidos a conversão para by-pass gastrointestinal distal, afirmando que este procedimento pode ser realizado como opção de tratamento nestes casos (15).

A banda gástrica com derivação jejunoileal, foi proposta como técnica menos agressiva e mais eficaz no tratamento cirúrgico da obesidade mórbida por Zilberstein et al. em 2010 (16).

Estudos recentes reportam a derivação biliopancreática como procedimento mais efetivo na perda de peso, entretanto devido sua complexidade técnica e riscos mais elevados de complicações principalmente metabólicas, só devem ser realizados em centros onde se pode ter um monitoramento rigoroso dos pacientes no pós operatório (14).

Posteriormente, várias técnicas foram desenvolvidas ao longo dos anos, e nos dias de hoje são divididas entre: restritivas (banda gástrica ajustável e gastrectomia vertical) (17,18,19), disabsortivas e mistas (derivação biliopancreática, cirurgia de Scopinaro, derivação biliopancreática com *duodenal switch* e o *bypass* gástrico em Y de Roux, proposta por Fobi e Capella) (20,21,22,23) e outras variações dessas técnicas, sendo que a maioria delas ainda associa a derivação jejunoileal em diferentes níveis de disabsorção. É claro que as técnicas disabsortivas geram maior preocupação devido ao estigma deixado pela derivação jejunoileal sobre os efeitos hepáticos (24,25).

Por outro lado, quando consideramos as técnicas mistas, como o *bypass* gástrico onde também se utiliza o componente disabsortivo só que em menor grau, vários são os trabalhos que evidenciam os efeitos benéficos e a melhora nos padrões histológicos hepáticos. Em estudo retrospectivo com 528 pacientes submetidos ao *bypass* gástrico, Luyckx et al., evidenciaram um alto índice de esteatose pré operatória (74%), com uma relação direta da severidade da esteatose com o índice de massa corpórea ( $p= 0,002$ ). No pós-operatório houve uma significativa ( $p < 0,001$ ) redução na severidade da esteatose leve: 62% vs 21%; moderada 37% vs 23%; severa 42% vs 15% (26).

Mummadi et al. em 2008, em meta análise detalhada, registraram melhora dos níveis de esteatose, esteatohepatite e fibrose em 15 estudos e 766 biópsias

pareadas, pós cirurgia bariátrica, com 91,6%; 81,3%; 65,5 % respectivamente (27). Em artigo de revisão recente, Sasaki e col. em 2014 observaram que em pacientes com obesidade severa submetidos a cirurgia bariátrica apresentaram redução nos graus de esteatose, inflamação hepática e fibrose. Entretanto existem poucos estudos clínicos randomizados para demonstrar os efeitos benéficos da cirurgia bariátrica no tratamento da doença hepática gordurosa não alcoólica (28).

Estudo prospectivo, com seguimento de 5 anos, avaliando os efeitos da cirurgia bariátrica na lesão hepática, Mathurim et al. 2009, demonstram melhoras no score de balonização de 0,2 para 0,1 e queda na porcentagem de esteatohepatite de 27,4 para 14,2% (29). Lassailly e col. em 2015, também em estudo prospectivo com biópsias hepáticas sequenciais, evidenciaram desaparecimento da esteatohepatite em 855 dos casos e significativa redução na balonização e inflamação lobular (30).

## **1.2 REVISÃO DA LITERATURA: OBESIDADE X DHGNA**

A obesidade afeta o organismo como um todo e é considerada fator de risco para o desenvolvimento de outras doenças crônicas como coronariopatias, diabete mellitus tipo II, hipertensão, dislipidemias, acidente vascular cerebral (AVC), câncer e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (31,32).

Entre as complicações relacionadas a obesidade, a DHGNA, termo clínico-patológico caracterizado pelo acúmulo de gordura (principalmente triglicerídeos) nos hepatócitos resultante da resistência à insulina, não associado ao consumo de bebida alcoólica (consumo <30g/d em homens e < 20g/d em mulheres), assume um papel de extrema importância por ser a doença hepática mais comum no mundo (33).

Estima-se que a prevalência da DHGNA dobrou em 20 anos, com taxa de 2-44% população europeia em geral (34). O espectro de doença vai desde um simples acúmulo de triglicerídeos em hepatócitos a esteatose hepática com inflamação ou esteatohepatite não alcoólica (EHNA), fibrose e cirrose (35). Nos

Estados Unidos existem aproximadamente 6 milhões de indivíduos com EHNA e 600.000 com cirrose por evolução da EHNA (34).

A DHGNA está relacionada a fatores genético e ambientais como hábitos alimentares pouco saudáveis e sedentarismo. A resistência à insulina tem um papel relevante no acúmulo de ácidos graxos no hepatócito. Esta favorece a lipogênese, inibe a lipólise e aumenta o aporte de ácidos graxos para o fígado. Na evolução da DHGNA para EHNA parece ocorrer aumento do estresse oxidativo, estresse do retículo endoplasmático, disfunção mitocondrial e endotoxemia crônica, predispondo a maior agressão hepatocelular e fibrose, que pode evoluir para cirrose (36).

Recentes estudos destacam a importância das interações entre o fígado e a microbiota intestinal (eixo intestino-fígado). Recebendo 70% de seu aporte sanguíneo proveniente do intestino, o fígado representa a primeira linha de defesa contra antígenos intestinais. A flora intestinal exerce um papel chave na manutenção saudável do eixo intestino-fígado (37,38).

Há evidências de que distúrbios na homeostase da microbiota intestinal e seu hospedeiro a nível epitelial, podem interferir na integridade da barreira intestinal; levando a translocação bacteriana, definida como a migração de bactérias ou toxinas produzidas por estas do lúmen intestinal para o sistema linfático intestinal, contribuindo com surgimento da DHGNA. O desarranjo da flora intestinal, particularmente um crescimento bacteriano no intestino delgado, ocorre em alta porcentagem (20-75%) nos pacientes com doença hepática crônica. Entretanto, não há estudos sobre o papel e o local da derivação jejunoileal em todo este contexto. (37,38).

Parâmetros clínicos e histológicos dos pacientes com DHGNA pós cirurgia bariátrica, em estudo que avaliou 381 pacientes com controle histológico no 1º e 5º ano, mostrou melhora da DHGNA e balonização, redução dos casos de EHNA, de 27,4 para 14,2% e na fibrose a mesma se manteve inalterada em 95% dos casos (29).

O impacto da perda de peso, média de 40%, pós cirurgia bariátrica (*bypass* gástrico e banda gástrica ajustável) no diabetes e níveis de alanina

aminotransferase (ALT), demonstrou acentuada queda nos níveis de ALT, com simultânea melhora nos níveis de hemoglobina glicosilada, sugerindo que os níveis de ALT podem ser usados como parâmetro para melhora metabólica (39).

Em metanálise recente realizada em 29 estudos por Bower et al. em 2015, demonstraram significativa redução de peso em diferentes técnicas de cirurgia bariátrica, associado a uma melhora nos parâmetros histológicos da DHGNA, incluindo esteatose, fibrose, balonização e inflamação lobular. A cirurgia está associada a uma redução dos níveis de enzimas hepáticas (34).

A cirurgia bariátrica também é empregada no tratamento da síndrome metabólica, nomeada como cirurgia metabólica. O que hoje conhecemos como síndrome metabólica, foi descrita como síndrome X na década de 80 por Gerald Reaven (40).

Quanto ao diagnóstico e o estadiamento da DHGNA, o exame histopatológico é o padrão ouro. Inicialmente, Brunt et al em 1999 sugeriram classificar EHNA em leve, moderada e grave (41). A seguir Matteoni et al em 1999 classificaram-na em quatro subgrupos: G1: esteatose isolada; G2: esteatose e inflamação lobular; G3: esteatose e balonização; G4: todos os achados e fibrose (42).

Em 2005, Kleiner et al propuseram uma atualização da classificação de Brunt, definindo uma graduação da atividade (NAS score) (43). O Subcomitê de Patologia de Pesquisa Clínica em esteato-hepatite validou esse escore para avaliar a atividade da doença hepática gordurosa não alcoólica e para ser utilizado em estudos de pesquisa (43). O escore é composto de várias características histopatológicas, sendo que quatro são descritas semiquantitativamente, como descritas a seguir:

a) Esteatose hepática: graduada quanto à sua intensidade em:

Grau 0: presente em até 5% dos hepatócitos.

Grau 1: se presente em > 5 a 30% dos hepatócitos.

Grau 2: se presente em > 33 a 66% dos hepatócitos.

Grau 3: se presente em > 66% dos hepatócitos.

b) Balonização hepatocelular: a intensidade da balonização foi graduada em:

0: ausente.

1: presença escassa.

2: presença abundante.

c) Infiltrado acinar: o tipo celular predominante foi anotado, se polimorfonuclear, mononuclear ou misto e sua intensidade foi assim classificada:

Estágio 0: ausente.

Estágio 1: presença de menos que dois focos em um aumento de 200 vezes.

Estágio 2: presença de dois a quatro focos em um aumento de 200 vezes.

Estágio 3: mais de quatro focos em um aumento de 200 vezes.

d) Fibrose: foi estadiada em quatro níveis

Estadio 0: Ausência de fibrose.

Estadio 1a: Fibrose leve, perissinusoidal na zona 3 acinar ou portal / periportal

Estadio 1b: Fibrose moderada, perissinusoidal na zona 3 acinar

Estadio 1c: Somente fibrose portal/periportal

Estadio 2: Fibrose perissinusoidal na zona 3 acinar e portal /periportal

Estadio 3: Fibrose com formação de septo

Estadio 4: Cirrose

O escore de avaliação da atividade foi criado pela soma não ponderada das seguintes características: esteatose hepática, infiltrado acinar e balonização:

- Ausência de esteato-hepatite
- Limítrofe: entre 3 e 4
- Esteato-hepatite:  $\geq 5$ .

A EHNA deve ser definida pela presença de esteatose e inflamação hepática com balonização, com ou sem fibrose. Assim, a balonização é considerada um critério necessário para o diagnóstico histológico de EHNA, e o NAS escore deve ser usado para graduar as alterações, mas não como critério de diagnóstico (44).

Segundo a Sociedade Brasileira de Patologia, em publicação de 2006, considera-se presença de esteato-hepatite se houver pelo menos dois dos critérios abaixo (45):

- Esteatose macrovesicular
- Balonização hepatocelular
- Fibrose perissinusoidal na zona 3 acinar

O número de cirurgias bariátricas aumentou de 13.365 no ano de 1998 para 200.000 em 2008 (46), e nesta década deve ter aumentado mais ainda. Deve ser considerada como alternativa de tratamento quando outras tentativas de perda de peso falharem. Os critérios de elegibilidade foram estabelecidos em 1991 no *National Institutes of Health Consensus Development Conference Panel* continuam sendo os mais aceitos até os dias de hoje (47), e no Brasil pelo Conselho Federal de Medicina (48).

Portanto, é de importância fundamental conhecer em profundidade todas as consequências e alterações secundárias provocadas pelas técnicas cirúrgicas empregadas.

Considerando todos esses aspectos, conceitos e diante dos conhecimentos atuais, onde os pacientes que eram submetidos a derivação jejunoileal o que se observava era uma progressão da lesão hepática pré-existente e em contrapartida, os pacientes submetidos técnicas com menor nível de disabsorção, como o by-pass gástrico, o que se observa é uma melhora significativa nos padrões histológicos de lesões hepática idealizamos este estudo para avaliação dos efeitos da derivação jejunoileal em diferentes níveis sobre o fígado em ratos Wistar.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar as alterações histológicas hepáticas de ratos submetidos à derivação jejunoileal.

### **2.2 Objetivos Específicos**

2.2.1 Comparar a perda ponderal com os diferentes níveis de derivação jejunoileal.

2.2.2 Avaliar alterações histológicas hepáticas após derivação jejunoileal em diferentes níveis.



### **3. MÉTODO**

#### **3.1 Animais**

O estudo foi realizado no Laboratório de Carcinogênese e Enzimologia do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Unicamp e recebeu aprovação da Comissão de Ética no uso de animais em pesquisa científica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, sob o protocolo nº 3198-1 (Apêndice).

Foram utilizados 196 ratos da raça Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus*, *Rodentia mammalia*), todos machos, com média de cinco meses de idade e peso variando de 359 a 543 g, sendo importante salientar que utilizamos ratos normais, não obesos, para avaliar os efeitos da disabsorção como fator único. Os animais foram fornecidos pelo Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório da Unicamp (CEMIB).

Os animais foram criados no próprio CEMIB, em condições especiais, sendo considerados saudáveis e livres de doença específicas.

#### **3.2 Anestesia dos animais**

A anestesia utilizada foi intraperitoneal, utilizando solução de Ketamina na dose de 75mg/ kg de peso e Xilazina na dose de 10mg/kg de peso.

### **3.3 Materiais utilizados para os procedimentos**

Os materiais utilizados para realização foram:

1. Balança digital comum com capacidade para 2 kg,
2. Prancha de cirurgia com elásticos para fixação dos membros do animal,
3. Cabo de bisturi,
4. Lâmina de bisturi nº 11,
5. Afastador auto estático,
6. Tesouras curva e reta de Metzenbaum,
7. Pinças anatômicas e dente de rato,
8. Campo fenestrado,
9. Gaze,
10. Cotonetes,
11. Fios de poligalactina 910 (Vicryl ®) número 6-0, nylon número 3-0 e nylon número 4-0,
12. Recipientes plásticos apropriados para colocação das biópsias hepáticas.

### 3.4 Procedimento cirúrgico

Os procedimentos cirúrgicos seguiram a técnica respeitando a anatomia animal

1. Submetido a anestesia intraperitoneal com solução de Ketamina na dose de 75mg/kg e Xilazina na dose de 10 mg/kg.
2. Após ter sido anestesiado, o animal foi identificado, por meio de marcas na cauda, pesado, posicionado em decúbito dorsal na prancha de cirurgia com os membros devidamente fixados nos elásticos.
3. Realizada tricotomia dos pelos abdominais
4. Antissepsia abdominal com solução de iodo-povidine
5. Colocação de campo fenestrado
6. Incisão mediana da cavidade abdominal, em uma extensão aproximada de 4 cm, a partir do apêndice xifoide
7. Colocação de afastador auto estático para exposição da cavidade abdominal
8. Identificação das estruturas anatômicas
9. Secção da alça intestinal à 5 cm do ligamento de Treitz e rafia com poligalactina 910 (Vicryl®) número 6-0 das extremidades proximal e distal
10. Realização de anastomose jejunoileal látero-lateral em plano único com fio de poligalactina 910 (Vicryl®) número 6-0, sutura contínua sero-muscular extra mucosa em níveis desejados.
11. Coleta de biópsia hepática, sempre realizada no mesmo segmento hepático, devidamente identificado e acondicionado em embalagem plástica apropriada, transferida para solução de álcool.
12. Revisão da hemostasia e limpeza da cavidade com soro fisiológico.
13. Fechamento da cavidade abdominal em 2 planos utilizando nylon número 3-0 e nylon número 4-0.

### 3.5 Ilustração do procedimento realizado

A anastomose jejunoileal foi realizada, segundo modelo desenvolvido por Brystol et al. em 1984 (49), com anastomose jejunoileal em diferentes níveis à distância de 2, 30 e 60cm da válvula ileocecal (VIC) nos respectivos grupos (Figuras 1, 2 e 3). As biópsias hepáticas foram coletadas sempre do mesmo segmento hepático.

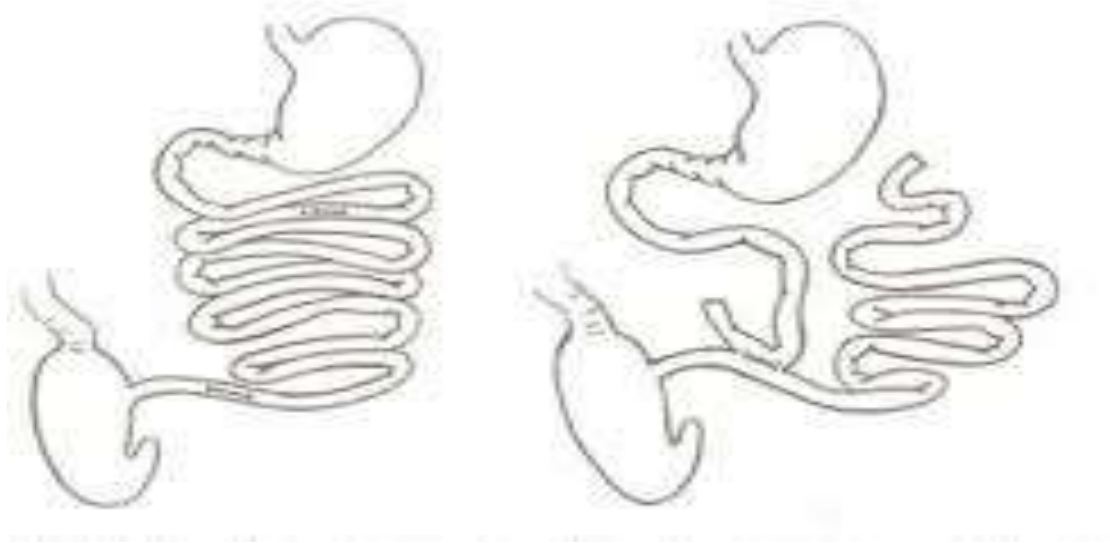


Figura 1. Anastomose jejunoileal, segundo modelo desenvolvido por Brystol et al. em 1984.

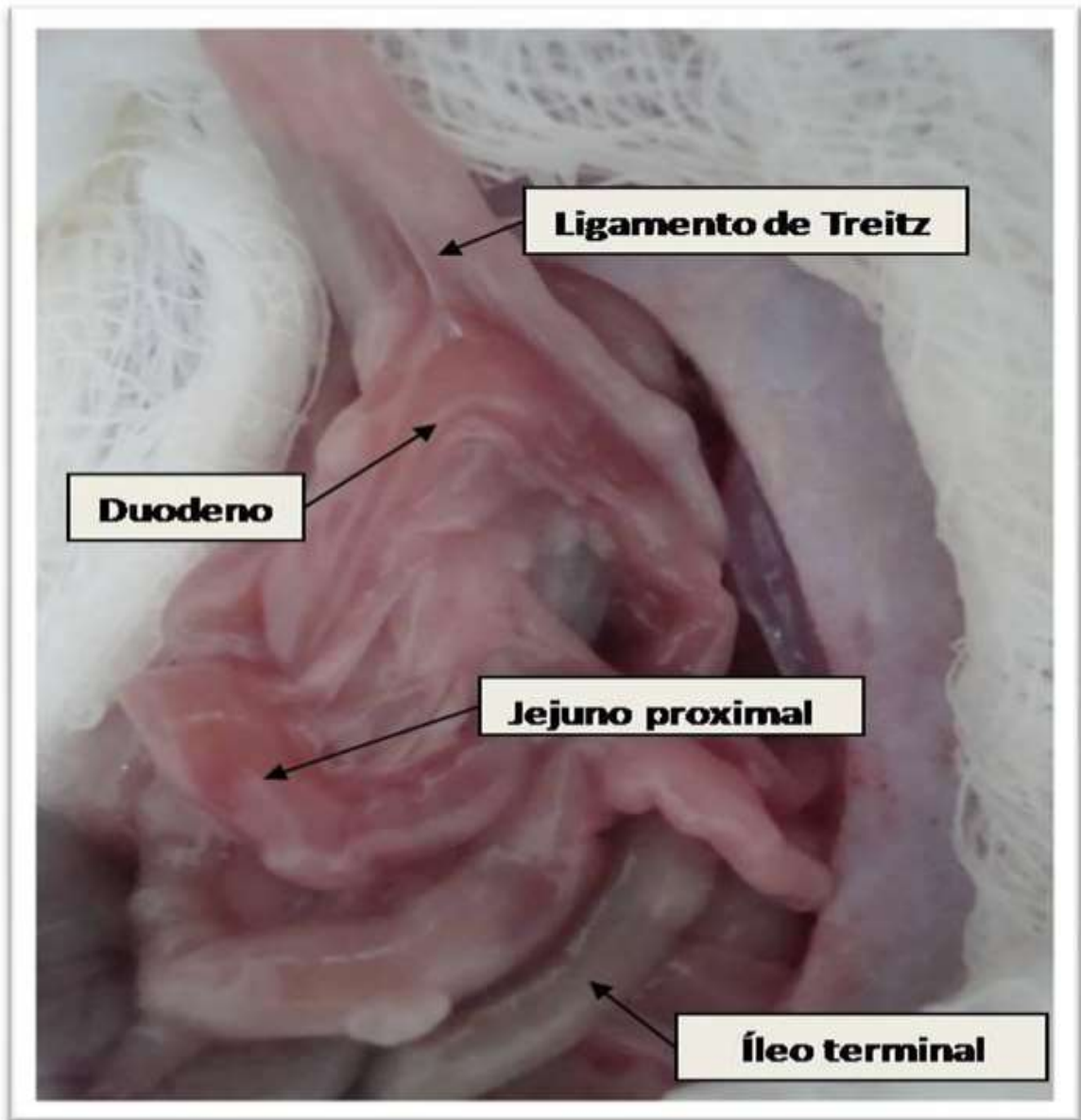


Figura 2. Anatomia aparelho digestivo do rato Wistar.

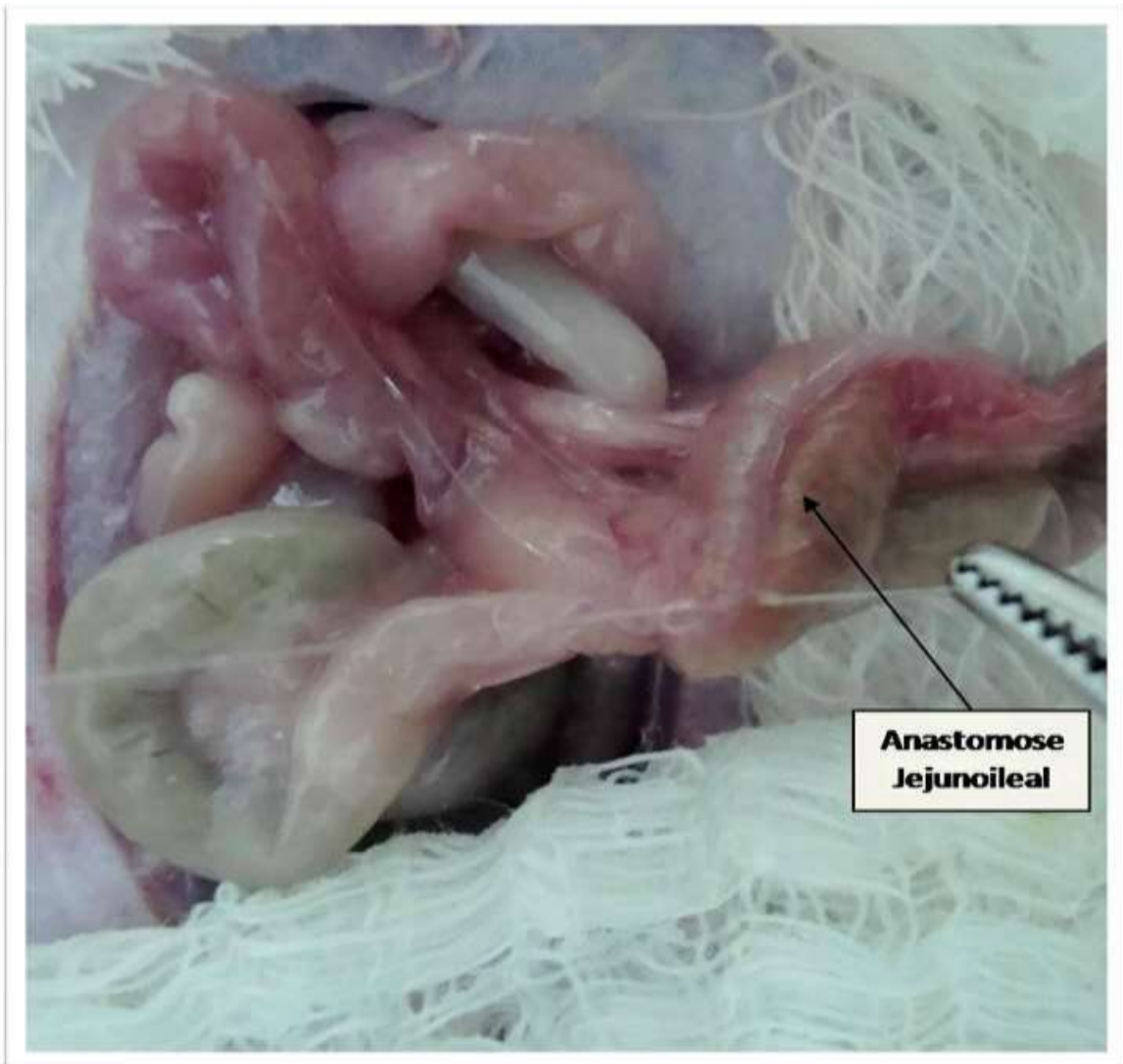


Figura 3. Anastomose jejunoileal.

### **3.6 Grupos de animais:**

O estudo experimental, após perdas, com um total de 44 ratos Wistar machos, divididos em 4 grupos:

Sham: grupo controle com 11 animais submetidos a cirurgia fictícia e biópsia hepática.

DJ2VI: grupo com 12 animais submetidos a derivação jejunoileal a 2 cm da válvula ileocecal e biópsia hepática.

DJ30VI: grupo com 11 animais submetidos a derivação jejunoileal a 30 cm da válvula ileocecal e biópsia hepática.

DJ60VI: grupo com 10 animais submetidos a derivação jejunoileal a 60 cm da válvula ileocecal e biópsia hepática.

Ao final da pesquisa os grupos ficaram com número diferente de animais, devido óbitos por etiologia desconhecida e tempo longo de observação.

### **3.7 Acondicionamento e cuidados pós operatórios**

Após serem submetidos ao procedimento cirúrgico, os mesmos foram acondicionados em estufas térmicas por um período de 3 horas, até o total restabelecimento da anestesia, em seguida transferidos para gaiolas.

Os animais divididos em grupos de 5, sendo mantidos em gaiolas de poliuretano medindo 33cm de largura, 40cm de comprimento e 18cm de altura, forradas com cama de 5 a 10 cm de maravalha e com tampa metálica.

Mantidos em um período de observação pós operatória de 5 meses, em biotério, gaiolas encontravam-se em prateleira metálica, com temperatura controlada evitando-se hipotermia, após jejum de 8 horas pós cirurgia, receberam água filtrada “ad libitum” em bebedouro plástico com capacidade de 500ml e alimentação com ração específica para roedores (Nuvilab®).

### **3.8 Manipulação**

A manipulação das gaiolas foi realizada sempre pelo mesmo técnico de laboratório, treinado especialmente para esta função. A higienização das mesmas foi realizada duas vezes por semana, utilizando calçados, avental e luvas próprias.

Para limpeza e conservação das gaiolas foram usados hipoclorito de sódio, quaternário de amônia e sabão em pó neutro.

### **3.9 Eutanásia e Biópsia hepática**

Transcorrido o período de observação de cinco meses de pós operatório, os animais foram:

1. Submetidos a nova anestesia intraperitoneal com solução de Ketamina na dose de 75mg/kg e Xilazina na dose de 10 mg/kg.
2. Após animal ter sido anestesiado, foi realizado a sua devida identificação pelas marcas na cauda, pesado, posicionado em decúbito dorsal na prancha de cirurgia com os membros devidamente fixados nos elásticos.
3. Realizada tricotomia dos pelos abdominais
4. Antissepsia abdominal com solução de iodo-povidine
5. Colocação de campo fenestrado
6. Incisão mediana da cavidade abdominal, em uma extensão aproximada de 4 cm, a partir do apêndice xifoide.
7. Colocação de afastador auto estático para exposição da cavidade abdominal
8. Identificação das estruturas anatômicas
9. Coleta de biópsia hepática, sempre realizada no mesmo segmento hepático, devidamente identificado e acondicionado em embalagem plástica apropriada, transferida para solução de álcool.
10. Eutanásia do animal por prolongamento anestésico.
11. Fechamento da cavidade abdominal plano único utilizando nylon número 3-0.
12. Encaminhamento do animal para incineração.



### **3.10 Confecção das Lâminas para Análise Histológica das amostras Hepáticas**

As peças anatômicas, devidamente identificadas e fixadas em formalina a 10%, foram encaminhadas aos Laboratórios de Anatomia Patológica do Gastrocentro e do Hospital das Clínicas - Unicamp, para confecção das lâminas, coradas com hematoxilina - eosina, corante tricrômico de Masson e de Pearls.

Os parâmetros avaliados foram os propostos pela Sociedade Brasileira de Patologia em 2006 (45)

#### 1. Esteatose macrovesicular:

Intensidade: • 0 (presente em < 5%)

- 1+ (presente em 5-33%)
- 2+ (presente em 33-66%)
- 3+ (presente em >66 %)

#### 2. Esteatose microvesicular:

- ausência de lençóis contíguos
- presença de lençóis contíguos

#### 3. Balonização hepatocelular:

Intensidade: • 0 ausente

- 1+ presença escassa
- 2+ presença abundante
- 3+ (com hialinos de Mallory)

#### 4. Inflamação acinar:

Intensidade: • 0 ausente

- 1 (presença de < 2 focos/ aumento de 200x)
- 2 (presença de 2-4 focos/aumento de 200x)
- 3 (presença de > 4 focos/ aumento de 200x)

#### 5. Inflamação portal:

Intensidade: • 0

- 1+
- 2+
- 3+

#### 6. Pseudo-inclusão nuclear de glicogênio:

Intensidade: • 0

- 1+
- 2+

#### 7. Estadiamento (Kleiner, Brunt et al, 2005) (41,43)

- Estadio 0: Ausência de fibrose.
- Estadio 1a: Fibrose leve, perissinusoidal na zona 3 acinar ou portal / periportal
- Estadio 1b: Fibrose moderada, perissinusoidal na zona 3 acinar
- Estadio 1c: Somente fibrose portal/periportal
- Estadio 2: Fibrose perissinusoidal na zona 3 acinar e portal /periportal
- Estadio 3: Fibrose com formação de septo
- Estadio 4: Cirrose

## 8. Sobrecarga de ferro:

Intensidade: • 0

• 1+

• 2+

• 3+

## 9. Esteato-hepatite:

Presença de esteato-hepatite se houver pelo menos dois dos critérios abaixo:

- Esteatose macrovesicular
- Balonização hepatocelular
- Fibrose perissinusoidal na zona 3 acinar

Todas as análises histológicas foram realizadas pelo mesmo patologista. As lâminas foram identificadas com numeração, sendo que o patologista não sabia à que grupo o animal pertencia.

#### 4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada pelos membros da Comissão de Estatística da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.

Análise descritiva com apresentação de tabelas de frequências para variáveis categóricas e medidas de posição e dispersão para variáveis numéricas. Na comparação de proporções foi utilizado o teste exato de Fisher. Na comparação das intensidades ao longo do tempo ou ajustando para a medida pré foi utilizado o método das Equações de Estimação Generalizadas (EEG). Na comparação do peso pré-operatório entre os grupos foi utilizado teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn para localização das diferenças. Na comparação do peso pós-operatório, ajustando para a medida pré foi utilizada a ANOVA com transformação por postos seguida pelo teste de Tukey-Kramer para localização das diferenças. Cálculo do poder *a posteriori* para cada variável. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi 5%. (50,51,52)

O programa computacional empregado foi o SAS *System for Windows* (*Statistical Analysis System*), versão 9.4. SAS *Institute Inc*, 2002-2012, Cary, NC, USA.

## 5.RESULTADOS

### 5.1 Peso dos animais

Foram calculados média, desvio padrão, valores mínimo, máximo e mediana do peso dos ratos estudados no pré e pós operatório, conforme tabela a seguir:

Tabela 1. Variação de peso dos animais no pré operatório e controle pós seguimento.

Grupo	VARIÁVEL	N	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	PESO MÍNIMO	MEDIANA	PESO MÁXIMO
DJ 2 VI	Peso pré-operatório	12	459.25	38,47	413.00	447.00	520.00
DJ 2 VI	Peso pós-operatório	12	413.33	29.01	359.00	408.50	484.00
DJ 30 VI	Peso pré-operatório	11	494.82	50.06	401.00	509.00	548.00
DJ 30 VI	Peso pós-operatório	11	540.91	47.03	460.00	557.00	605.00
DJ 60 VI	Peso pré-operatório	10	475.70	56.84	389.00	454.00	568.00
DJ 60 VI	Peso pós-operatório	10	603.00	43.49	543.00	588.00	688.00
SHAM	Peso pré-operatório	11	428.73	43.77	365.00	428.00	504.00
SHAM	Peso pós-operatório	11	576.64	57.07	468.00	584.00	676.00

DJ = derivação jejunoileal VI= válvula ileocecal Peso expresso em gramas

Valor de  $p = 0.0329$  (teste de Mann-Whitney comparando os grupos no pré-operatório), portanto  $p < 0.05$

Devido heterogeneidade na medida de pesos entre os grupos no pré operatório houve necessidade de ajuste para as medidas pré operatórias. As médias ajustadas dos pesos pós operatórios são descritas na tabela abaixo:

Tabela 2. Média de peso ajustadas.

<b>Grupo</b>	<b>Peso pós operatório</b>
<b>DJ 2 VI</b>	416.03
<b>DJ 30 VI</b>	524.41
<b>DJ 60 VI</b>	596.82
<b>SHAM</b>	595.82

DJ= derivação jejunoileal VI = válvula ileocecal Peso expresso em gramas

Para comparação de médias, segundo ANOVA com transformação por postos seguida pelo teste de Tukey-Kramer, pode-se afirmar ( $p < 0,0001$ ):

Houve diferença significativa entre o grupo de derivação jejunoileal à 2 cm com os demais grupos, sendo este único grupo com pesos pós operatórios menores que os pesos iniciais.

Houve diferença significativa entre os grupos derivação jejunoileal à 30 cm e 60 cm.

Houve diferença significativa entre o grupo de derivação jejunoileal à 30 cm e os demais grupos, sendo este com média de ganho de peso intermediário aos demais grupos.

Não houve diferença significativa entre os grupos Sham e derivação à 60 cm

A figura abaixo, mostra a variação de peso dos animais no pré e pós operatório.

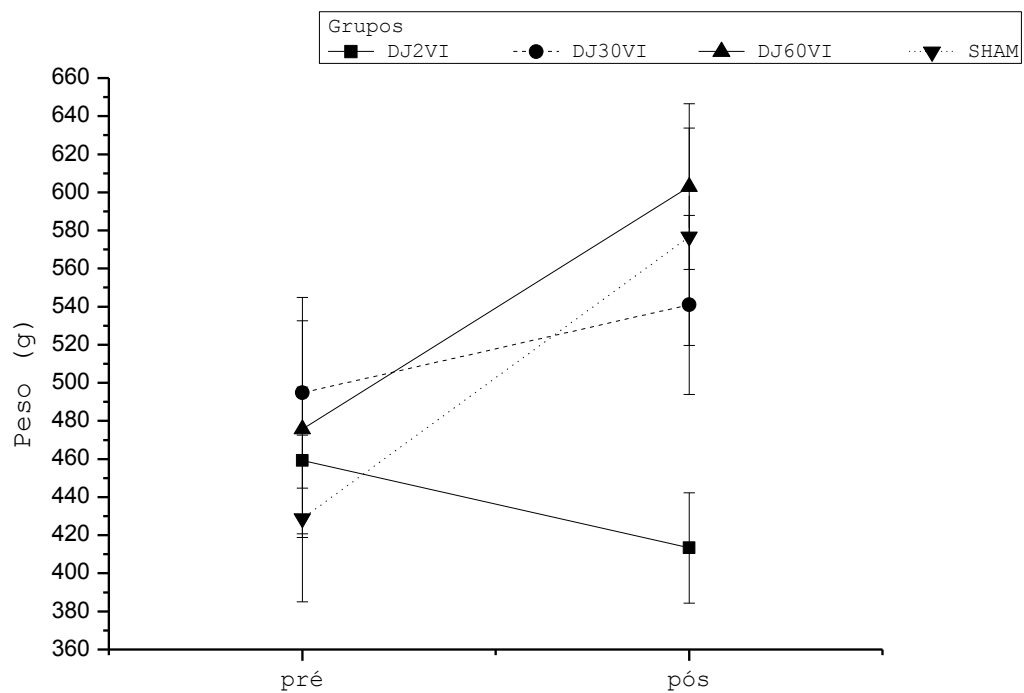


Figura 4: Valor médio e desvio padrão do peso em cada grupo

## 5.2 Análise descritiva e comparação de avaliação inicial e final entre os grupos.

Tabela 3. Análise descritiva das variáveis entre os grupos por frequência de aparecimento nas amostras colhidas no ato da realização da cirurgia.

Variável	Grupo DJ2VI (N=12)	Grupo DJ30VI (N=11)	Grupo DJ60VI (N=10)	Grupo Sham (N=11)	Total (N=44)	Valor p
<b>Esteato-hepatite</b>						
<b>Ausente</b>	12(100%)	11(100%)	10(100%)	11(100%)	44(100%)	-
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	
<b>Esteatose macrovesicular</b>						
<b>0</b>	12(100%)	11(100%)	10(100%)	11(100%)	44(100%)	-
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	
<b>Esteatose microvesicular</b>						
<b>0</b>	12(100%)	10(90.9%)	9(90.0%)	10(90.9%)	41(93.2%)	0.6910
<b>1</b>	0	1(9.1%)	1(10.0%)	1(9.1%)	3(6.8%)	p>0.05
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	
<b>Balonização hepatocelular</b>						
<b>0</b>	11(91.7%)	11(100%)	10(100%)	11(100%)	43(97.7%)	-
<b>1</b>	1(8.3%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(6.8%)	
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	
<b>Inflamação acinar/intensidade</b>						
<b>0</b>	12(100%)	7(63.6%)	9(90.0%)	10(90.9%)	38(86.4%)	0.0863
<b>1</b>	0(0.0%)	4(36.4%)	1(10.0%)	1(9.1%)	6(13.6%)	p>0.05
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	
<b>Inflamação portal/intensidade</b>						
<b>0</b>	6(50.0%)	4(36.4%)	8(80.0%)	11(100.0%)	29(65.9%)	0.0038
<b>1</b>	6(50.0%)	7(63.6%)	2(20.0%)	0	15(34.1%)	P<0.05
<b>Total</b>	12	11	10	11		
<b>Pseudo-inclusão nuclear de glicôgeno/intensidade</b>						
<b>0</b>	12(100.0%)	11(100.0%)	10(100.0%)	11(100.0%)	44(100.0%)	-
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	
<b>Estadiamento</b>						
<b>0</b>	12(100.0%)	7(63.6%)	8(80.0%)	11(100.0%)	40(90.9%)	0.0064
<b>1A</b>	0(0.0%)	4(36.4%)	2(20.0%)	0(0.0%)	4(9.1%)	p<0.05
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	
<b>Sobrecarga de ferro</b>						
<b>0</b>	12(100.0%)	11(100.0%)	10(100.0%)	11(100.0%)	44(100.0%)	-
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	



Baseado no teste de Fisher, as variáveis inflamação portal e estadiamento não apresentaram homogeneidade das amostras com  $p=0.0038$  e  $p=0.0064$ , respectivamente (Tabela 3).

Tabela 4. Análise descritiva das variáveis entre os grupos por frequência de aparecimento nas amostras colhidas no dia da eutanásia do animal.

Variável	Grupo DJ2VI (N=12)	Grupo DJ30VI (N=11)	Grupo DJ60VI (N=10)	Grupo Sham (N=11)	Total (N=44)	Valor p
<b>Esteato-hepatite</b>						
Ausente	12(100%)	8(72.7%)	8(80.0%)	10(90.9%)	38(86.4%)	0.20 p>0.05
Leve	0(0.0%)	3(27.3%)	2(20.0%)	1(9.1%)	6(13.6%)	
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>	
<b>Esteatose macrovesicular</b>						
0	12(100%)	8(72.7%)	9(90%)	11(100%)	40(90.9%)	0.064 p>0.05
1	0(0.0%)	3(27.3%)	1(10.0%)	0(0.0%)	4(9.1%)	
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>	
<b>Esteatose microvesicular</b>						
0	12(100%)	10(90.9%)	6(60.0%)	9(81.8%)	37(84.1%)	-
1	0	1(9.1%)	4(40.0%)	2(18.2%)	7(15.9%)	
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>	
<b>Balonização hepatocelular</b>						
0	11(91.7%)	6(54.5%)	0(0.0%)	3(27.3%)	20(45.5%)	-
1	1(8.3%)	4(36.4%)	7(70.0%)	5(45.5%)	17(38.6%)	
2	0(0.0%)	1(9.1%)	1(10.0%)	2(18.2%)	4(9.1%)	
3	0(0.0%)	0(0.0%)	2(20.0%)	1(9.1%)	3(6.8%)	
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>	
<b>Inflamação acinar/intensidade</b>						
0	9(75.0%)	4(36.4%)	1(10.0%)	7(63.6%)	21(47.7%)	-
1	3(25.0%)	7(63.6%)	8(80.0%)	3(27.3%)	21(47.7%)	
2	0(0.0%)	0(0.0%)	1(10.0%)	1(9.1%)	2(4.5%)	
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>	
<b>Inflamação portal/intensidade</b>						
0	7(58.3%)	3(27.3%)	1(10.0%)	1(9.1%)	12(27.3%)	-
1	5(41.7%)	7(63.6%)	9(90.0%)	10(90.9%)	31(70.5%)	
2	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	
3	0(0.0%)	1(9.1%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(2.2%)	
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>	
<b>Pseudo-inclusão Nuclear de glicogênio/intensidade</b>						
0	12(100.0%)	11(100.0%)	10(100.0%)	11(100.0%)	44(100.0%)	-
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>	

<b>Estadiamento</b>						
<b>0</b>	12(100.0%)	11(100.0%)	7(70.0%)	10(90.9%)	40(90.9%)	-
<b>1A</b>	0(0.0%)	0(0.0%)	3(30.0%)	1(9.1%)	4(9.1%)	
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	
<b>Sobrecarga de ferro</b>						
<b>0</b>	11(91.7%)	11(100.0%)	10(100.0%)	10(90.9%)	42(95.5%)	1.00
<b>1</b>	1(8.3%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(9.1%)	2(4.5%)	$p > 0.05$
<b>Total</b>	12	11	10	11	44	

Baseado no teste de Fisher, as variáveis esteato-hepatite, esteatose macrovesicular, pseudo-inclusão nuclear de glicogênio/intensidade e sobrecarga de ferro não mostraram variação com significância estatística ( $p > 0.05$ ) (Tabela 4).

### 5.3 Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação das variáveis.

As variáveis esteato-hepatite, esteatose macrovesicular, pseudo-inclusão nuclear/intensidade e sobrecarga de ferro, não foram avaliadas pela EEG, pois não apresentaram variação significativa, avaliadas pelo teste de Fisher.

#### # Esteatose microvesicular

Tabela 5. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável esteatose microvesicular.

Variável	Grupo DJ2VI (N=12)	Grupo DJ30VI (N=11)	Grupo DJ60VI (N=10)	Grupo Sham (N=11)	Total (N=44)
<b>Esteatose microvesicular</b>					
<b>Primeira amostra</b>					
0	12(100%)	10(90.9%)	9(90.0%)	10(90.9%)	41(93.2%)
1	0	1(9.1%)	1(10.0%)	1(9.1%)	3(6.8%)
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>
<b>Esteatose microvesicular</b>					
<b>Segunda amostra</b>					
0	12(100%)	10(90.9%)	6(60.0%)	9(81.8%)	37(84.1%)
1	0	1(9.1%)	4(40.0%)	2(18.2%)	7(15.9%)
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>

Comparando-se as biópsias realizadas no pré operatório com as do pós operatório, verifica-se que os grupos DJ2VI e DJ30VI se mantiveram inalterados. Foram encontradas alterações nos grupos DJ60VI e Sham, porém sem significância estatística para o tempo (valor -  $p=0.2059$  –  $p > 0.05$ ) (Tabela 5). Não houve significância estatística na comparação entre os grupos (valor -  $p=0.3111$  –  $p > 0.05$  - EEG).

## # Balonização hepatocelular

Tabela 6. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável balonização hepatocelular.

Variável	Grupo DJ2VI (N=12)	Grupo DJ30VI (N=11)	Grupo DJ60VI (N=10)	Grupo Sham (N=11)	Total (N=44)
<b>Balonização hepatocelular</b>					
<b>Primeira amostra</b>					
0	11(91.7%)	11(100%)	10(100%)	11(100%)	43(97.7%)
1	1(8.3%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(6.8%)
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>
<b>Balonização hepatocelular</b>					
<b>Segunda amostra</b>					
0	11(91.7%)	6(54.5%)	0(0.0%)	3(27.3%)	20(45.5%)
1	1(8.3%)	4(36.4%)	7(70.0%)	5(45.5%)	17(38.6%)
2	0(0.0%)	1(9.1%)	1(10.0%)	2(18.2%)	4(9.1%)
3	0(0.0%)	0(0.0%)	2(20.0%)	1(9.1%)	3(6.8%)
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>

Valor -  $p < 0.0001$  (pós x pré) e Valor -  $p=0.0008$  (entre grupos) - EEG

Na análise comparativa entre os grupos foi observado que (Tabela 6):

O grupo DJ2VI se manteve inalterado

Ocorreram alterações nos grupos DJ30VI, DJ60VI e Sham

Houve significância estatística na comparação entre os grupos:

Sham mais alteração em relação à DJ2VI ( $p=0.0097$ ) -  $p < 0.05$

DJ60VI mais alteração em relação à DJ2VI ( $p=0.0007$ ) -  $p < 0.05$

DJ60VI mais alteração em relação à DJ30VI ( $p=0.0062$ ) -  $p < 0.05$

## # Inflamação acinar/ Intensidade

Tabela 7. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável inflamação acinar/intensidade.

Variável	Grupo DJ2VI (N=12)	Grupo DJ30VI (N=11)	Grupo DJ60VI (N=10)	Grupo Sham (N=11)	Total (N=44)
<b>Inflamação acinar/intensidade</b>					
<b>Primeira amostra</b>					
0	12(100%)	7(63.6%)	9(90.0%)	10(90.9%)	38(86.4%)
1	0(0.0%)	4(36.4%)	1(10.0%)	1(9.1%)	6(13.6%)
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>
<b>Inflamação acinar/intensidade</b>					
<b>Segunda amostra</b>					
0	9(75.0%)	4(36.4%)	1(10.0%)	7(63.6%)	21(47.7%)
1	3(25.0%)	7(63.6%)	8(80.0%)	3(27.3%)	21(47.7%)
2	0(0.0%)	0(0.0%)	1(10.0%)	1(9.1%)	2(4.5%)
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>44</b>

Valor -  $p=0.0002$  (pós x pré) e Valor -  $p=0.0050$  (entre grupos) - EEG

Na análise comparativa entre os grupos foi observado que (Tabela 7):

Ocorreram alterações em todos os grupos

Houve significância estatística na comparação entre os grupos:

DJ30VI mais alteração em relação à DJ2VI ( $p=0.0030$ ) -  $p < 0.05$

DJ60VI mais alteração em relação à DJ2VI ( $p=0.0009$ ) -  $p < 0.05$

## # Inflamação portal/ Intensidade

Tabela 8. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável inflamação portal / intensidade.

Variável	Grupo DJ2VI (N=12)	Grupo DJ30VI (N=11)	Grupo DJ60VI (N=10)	Grupo Sham (N=11)	Total (N=44)
<b>Inflamação portal/intensidade</b>					
<b>0</b>	6(50.0%)	4(36.4%)	8(80.0%)	11(100.0%)	29(65.9%)
<b>1</b>	6(50.0%)	7(63.6%)	2(20.0%)	0	15(34.1%)
<b>Total</b>	12	11	10	11	
<b>Inflamação portal/intensidade</b>					
<b>0</b>	7(58.3%)	3(27.3%)	1(10.0%)	1(9.1%)	12(27.3%)
<b>1</b>	5(41.7%)	7(63.6%)	9(90.0%)	10(90.9%)	31(70.5%)
<b>2</b>	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
<b>3</b>	0(0.0%)	1(9.1%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(2.2%)
<b>Total</b>	12	11	10	11	44

Valor -  $p=0.0489$  (entre os grupos ajustando para o pré)

Na análise comparativa entre os grupos foi observado que (Tabela 8):

Houve melhora no grupo DJ2VI

Ocorreram mais alterações nos grupos Sham DJ30VI e DJ69VI

Houve significância estatística na comparação entre os grupos:

DJ2VI menos alteração em relação à Sham ( $p=0.0210$ ) -  $p < 0.05$

DJ2VI menos alteração em relação à DJ60VI ( $p=0.0389$ ) -  $p < 0.05$

## # Estadiamento

Tabela 9. Análise descritiva e resultados das Equações de estimação generalizada (EEG) para comparação da variável estadiamento.

Variável	Grupo DJ2VI (N=12)	Grupo DJ30VI (N=11)	Grupo DJ60VI (N=10)	Grupo Sham (N=11)	Total (N=44)
<b>Estadiamento</b>					
<b>0</b>	12(100.0%)	7(63.6%)	8(80.0%)	11(100.0%)	40(90.9%)
<b>1A</b>	0(0.0%)	4(36.4%)	2(20.0%)	0(0.0%)	4(9.1%)
<b>Total</b>	12	11	10	11	44
<b>Estadiamento</b>					
<b>0</b>	12(100.0%)	11(100.0%)	7(70.0%)	10(90.9%)	40(90.9%)
<b>1A</b>	0(0.0%)	0(0.0%)	3(30.0%)	1(9.1%)	4(9.1%)
<b>Total</b>	12	11	10	11	44

Valor -  $p=0.7166$  (entre os grupos ajustando para o pré)

Na análise comparativa entre os grupos foi observado que (Tabela 9):

O grupo DJ2VI se manteve inalterado

Houve menos alteração no grupo DJ30VI

Ocorreram mais alterações nos grupos DJ60VI e Sham

Não houve significância estatística na diferença entre os grupos (valor -  $p=0.7166 - p > 0.05$  - EEG).



## 6. DISCUSSÃO

A obesidade continua aumentando ao redor do mundo, já considerada como uma epidemia, estima-se que 40% da população dos Estados Unidos será obesa em 2025. A cirurgia bariátrica é o tratamento mais efetivo desta doença, uma vez que, até o momento, a literatura evidencia insucesso do tratamento clínico, assim sendo é importante pesquisar possíveis complicações tardias das técnicas utilizadas (27,53,54).

A prevalência da esteatose e doença hepática gordurosa não alcoólica, (DHGNA) na obesidade severa (grau III), em pacientes submetidos as técnicas de tratamento cirúrgico que propiciam perda de peso, pode exceder 90% e aproximadamente 5 % destes podem apresentar cirrose hepática (28). A DHGNA é uma síndrome clínica que varia de uma simples esteatose até esteatohepatite e fibrose. Geralmente está associada a dislipidemia, obesidade e resistência à insulina, que são os componentes da síndrome metabólica (53).

A patogênese da DHGNA é bastante complexa e envolve múltiplos fatores. A maioria dos autores acredita na teoria dos múltiplos “ *hits*”, destacando-se a resistência insulínica (RI) como condição inicial para o acúmulo de ácidos graxos no hepatócito (*first hit*), uma vez que favorece a lipogênese e inibe a lipólise, até mesmo no fígado, aumentando excessivamente o aporte de ácidos graxos a esse órgão, seguida de uma sequência de eventos como o aumento do estresse oxidativo, estresse do retículo endoplasmático, disfunção mitocondrial e endotoxemia crônica (*multiple hits*). Este fígado esteatótico se tornaria vulnerável aos *multiple hits*, levando à lesão hepatocelular, inflamação e fibrose (Day et al 1998) (53).

Essa associação entre obesidade e DHGNA, somado ao fato do tratamento cirúrgico ser o mais efetivo na obesidade, promove uma melhora da alteração hepática, embora o mecanismo ainda não esteja bem elucidado (27,54).

Portanto idealizamos nosso estudo para avaliação dos efeitos da cirurgia disabsortiva sobre o fígado e escolhemos os ratos Wistar pois seu trato gastrointestinal é muito semelhante ao dos humanos (55).

A pesquisa experimental analisa o problema, constrói suas hipóteses e trabalha manipulando os possíveis fatores e as variáveis que se referem ao fenômeno observado. A manipulação na quantidade e qualidade das variáveis proporciona o estudo da relação entre causas e efeitos de um determinado fenômeno, podendo-se controlar e avaliar os resultados dessas relações. Assim, na pesquisa é necessário conhecimento técnico adequado e alto rigor ético do pesquisador na experimentação animal. O pesquisador deve conhecer muito bem a etiologia e biologia da espécie utilizada, além da fisiopatologia dos eventos envolvidos, ter consciência da importância de seu trabalho, de suas conclusões e seus limites, podendo beneficiar ou prejudicar centenas de milhares de pessoas (59).

Os ratos Wistar (desenvolvidos por Helen Dean King, na Filadélfia –USA - em 1909) e o Sprague-Dawley foram gradualmente tornando-se os mais empregados em todo o mundo nas pesquisas de laboratório (56,57,58). A fisiopatologia e as alterações a longo prazo dos procedimentos cirúrgicos realizados podem ser estudadas nesses, pois existe uma correspondência de 30 dias de vida do homem para cada dia de vida do rato, como demonstrado na revisão de Andreollo e cols. em 2012 (Tabela 10) (59).

Tabela 10. Equivalência entre a idade do rato e ser humano (59).

IDADE DO RATO EM MESES	IDADE DO HUMANO EM ANOS
<b>6 MESES</b>	15 ANOS
<b>12 MESES</b>	30 ANOS
<b>18 MESES</b>	45 ANOS
<b>24 MESES</b>	60 ANOS
<b>30 MESES</b>	75 ANOS
<b>36 MESES</b>	90 ANOS
<b>42 MESES</b>	105 ANOS
<b>45 MESES</b>	115 ANOS
<b>48 MESES</b>	120 ANOS

Nesta pesquisa, foi realizada a derivação jejunoileal em diferentes níveis em ratos Wistar, saudáveis para avaliar a correlação da cirurgia disabsortiva em três distâncias (2cm, 30 cm e 60 cm) da válvula ileocecal mais um grupo controle Sham, tendo sido realizadas biópsias hepáticas colhidas no intraoperatório, para estudo das alterações histológicas, e repetidas 5 meses de pós operatório, além da avaliação do peso pré e pós operatório.

Sabemos que resultados obtidos na pesquisa experimental não podem ser integralmente transpostos ao ser humano, além disso, até o momento, não foram encontrados estudos semelhantes na literatura, portanto tivemos uma grande dificuldade para comparações dos nossos resultados, sendo necessária a comparação com estudos clínicos.

A primeira hipótese levantada neste estudo foi que quanto mais distal fosse a derivação (mais próxima da válvula ileocecal) ou seja quanto mais disabsortiva, maior seria a perda de peso. E neste aspecto, as amostras

necessitaram de ajuste devido a não homogeneidade, pois os pesos variaram de 365g a 584g.

Quando se utiliza técnicas com níveis mais acentuados de disabsorção, como ao by-pass modificado e a derivação biliopancreática, os níveis de perda de peso obtidos são maiores (60,61,62). Nesta pesquisa, estes achados se confirmaram, houve diferença entre o grupo de derivação jejunoileal a 2 cm com os demais grupos, sendo este o único grupo com pesos pós operatórios menores do que os pesos iniciais ( $p < 0,0001$ ).

Com relação às alterações hepáticas, nos pacientes submetidos a derivação jejunoileal o que se destaca é a importância de determinadas lesões prévias que tem uma maior predisposição à uma evolução mais desfavorável (4,8,11).

Haines et al, estudaram 27 pacientes com obesidade mórbida submetidos a derivação jejunoileal a 10cm da válvula ileocecal, com biópsias hepáticas no intraoperatório, 3,6,12,18 e 24 meses do pós operatório. Evidenciaram que os pacientes que apresentaram fibrose pericentral no intraoperatório, tinham maior risco de desenvolver tardiamente esteatonecrose e cirrose (11).

Nesta pesquisa com relação ao **estadiamento** o grupo DJ2VI se manteve inalterado, registrando-se menos alterações no grupo DJ30VI e mais alterações nos grupos DJ60VI e Sham. Foi encontrado fibrose leve perissinusoidal na zona 3 acinar ou portal / periportal (estadio 1A), nos grupos submetidos a derivação a 30 e 60 cm da válvula ileocecal em 36,4% e 20%, respectivamente. E menos alterações foram encontradas no grupo de animais submetidos a derivação a 30cm, porém sem significância estatística na comparação entre os grupos ( $p = 0,7166 - p > 0.05$ ).

Vyberg et al, estudaram 34 pacientes com obesidade mórbida, submetidos a derivação jejunoileal a 10cm da válvula ileocecal, com biópsias hepáticas no intraoperatório. Os pacientes foram divididos em quatro grupos, sendo o grupo A com ausência ou presença de esteatose leve, grupo B com esteatose moderada ou severa, grupo C com esteatohepatite (esteatose + inflamação lobular) e grupo D com esteatofibrose (esteatose + fibrose pericelular). Todos os pacientes apresentaram agravamento da lesão

hepática pré existente, porém, apenas os pacientes que apresentaram fibrose pericelular evoluíram com desarranjo da arquitetura celular, com 3 deles evoluindo com cirrose (8).

Nesta pesquisa em relação à **esteatose microvesicular**, os grupos DJ2VI e DJ30VI se mantiveram inalterados, registrando-se mais alterações nos grupos DJ60VI e Sham. Porém, não houve significância estatística na comparação entre os grupos ( $p=0,311 - p > 0.05$ ).

Na avaliação de **esteatose macrovesicular**, os grupos DJ2VI e Sham se mantiveram inalterados, constatando-se mais alterações dos grupos DJ 30VI e DJ 60VI. Porém, não houve variação significativa entre os grupos ( $p > 0.05$ ).

Na avaliação de **esteato-hepatite**, o grupo DJ2VI se manteve inalterado e foram registradas mais alterações nos grupos DJ30VI, DJ60VI e Sham. Porém, não houve variação significativa entre os grupos ( $p>0,05$ ).

Nos pacientes submetidos a técnicas com níveis de disabsorção menos acentuados como o *by-pass* gástrico, o que se evidencia são significativas melhoras em determinados padrões histológicos da lesão hepática (26,27,28,63,64).

Luyckx et al, estudaram 528 pacientes obesos mórbidos submetidos ao *by-pass* gástrico (Fobi-Capella) e biópsias hepáticas do intraoperatório e 25 +/- meses de pós operatório, evidenciou uma significativa redução na severidade da esteatose no pós operatório (leve: 62% vs 21%; moderada 37% vs 23%; severa 42% vs 15%) (26).

Nesta pesquisa, como citado anteriormente, com relação a **esteatose microvesicular** não houve significância estatística na comparação entre os grupos ( $p=0.3111 - p > 0,05$ ) e **macrovesicular** não houve variação significativa entre os grupos ( $p > 0.05$ ).

Furuya Jr et al, estudaram 18 pacientes com IMC  $> 40 \text{ Kg/m}^2$ , submetidos ao *bypass* gástrico (Fobi-Capella), com avaliação histológica hepática no intra operatório e 24 meses de pós operatório, evidenciando o desaparecimento na balonização hepatocelular em 50% dos casos (64).

Nesta pesquisa na avaliação da **balonização hepatocelular**, o grupo DJ2VI sem manteve inalterado, registrando-se mais alterações nos grupos DJ30VI, DJ60VI e Sham. Houve significância estatística na comparação entre os grupos onde o grupo Sham apresentou mais alterações em relação ao grupo DJ2VI ( $p=0.0097 - p < 0,005$ ); o grupo DJ60VI apresentou mais alteração em relação ao grupo DJ2VI ( $p=0.0007 - p < 0.05$ ) e o grupo DJ60VI apresentou mais alteração em relação ao grupo DJ30VI ( $p=0.0062 - p < 0.05$ ). Deve ser destacado que a presença das alterações encontradas (níveis 2 e 3), descritas na Tabela 6, foram em focos isolados nas lâminas analisadas, e não generalizadas.

No mesmo estudo de Furuya Jr et al, quando esses autores avaliaram o infiltrado inflamatório lobular, o mesmo sem manteve presente com uma incidência alta em 81% dos casos (64).

Nesta pesquisa quando avaliamos o **infiltrado inflamatório acinar / intensidade**, foram encontradas alterações em todos os grupos. Houve significância estatística na comparação entre os grupos, onde o grupo DJ30VI apresentou mais alteração em relação ao grupo DJ2VI ( $p=0.0030 - p < 0.05$ ) e o grupo DJ60VI apresentou mais alteração em relação ao grupo DJ2VI ( $p=0.0009 - p < 0.05$ ).

Na avaliação do **infiltrado inflamatório portal / intensidade**, foram encontradas alterações em todos os grupos. Houve significância estatística na comparação entre os grupos, onde o grupo DJ2VI apresentou menos alteração em relação ao grupo Sham ( $p=0.0210 - p < 0.05$ ) e o grupo DJ2VI apresentou menos alteração em relação ao grupo DJ60VI ( $p=0.0389 - p < 0.05$ ).

Na avaliação da **pseudo-inclusão nuclear de glicogênio / intensidade** os grupos se mantiveram inalterados.

Na avaliação da **sobrecarga de ferro** os grupos DJ30VI e DJ60VI se mantiveram inalterados e ocorreram mais alterações nos grupos DJ2VI e Sham. Porém, não houve variação significativa entre os grupos ( $p > 0.05$ ).

A segunda hipótese levantada não se confirmou com os resultados obtidos, contrário ao que observamos na literatura nos pacientes submetidos a derivação jejunoileal (8,11).

Os dados obtidos em nossa pesquisa sugerem que a disabsorção em si não é um fator isolado causador de lesão hepática. Como descrito acima encontramos parâmetros em que houve menos alterações com graus de disabsorção mais acentuado.

### **5.1 Considerações finais**

O estudo dos efeitos da disabsorção são de fundamental importância. Apesar da derivação jejunoileal ser um procedimento proscrito pelo Conselho Federal de Medicina ainda são muito empregadas técnicas legalizadas que a utilizam, causando níveis acentuados de disabsorção, como a cirurgia de Scopinaro, a derivação biliopancreática com *duodenal switch* (48) e outras em estudo (16).

Com o surgimento da denominação “ cirurgia metabólica”, não apenas para tratamento da obesidade, mas indicação da cirurgia baseada nos critérios da síndrome metabólica e não apenas no IMC (ainda em fase de elaboração), com certeza vamos entrar em uma nova era e a disabsorção parece exercer papel fundamental nos efeitos metabólicos desta cirurgia (65,66,67).

Em recente estudo experimental, Melissas et al. em 2015, evidenciaram melhora significativa em nos níveis de glicemia de jejum e de tolerância a glicose em ratos diabéticos não obesos submetidos a derivação jejunoileal (68).

A obesidade está associada à alta incidência da doença hepática gordurosa não alcoólica, e o DM-2 está associada às formas mais avançadas desta doença. A busca e detecção precoce da doença gordurosa em populações de alto risco é importante para evitar o futuro desenvolvimento de formas graves e a necessidade de transplante hepático (69).

Não resta dúvida que a disabsorção deve ser utilizada de modo bastante criterioso, o conhecimento da existência da lesão hepática prévia é de fundamental importância, existem lesões prévias que associadas a disabsorção evoluem de forma desfavorável (8,10,11).

Como foi observado em nossa pesquisa, a disabsorção isoladamente sugere não ser um fator causador de lesão hepática, mas com certeza associada à outros fatores como o diabetes, a própria obesidade conhecida como um estado inflamatório crônico e outras doenças associadas que não eram diagnosticadas na época em que se utilizava a derivação jejunoileal, como a hepatite C, certamente colaboram para o agravamento de determinadas lesões (5,69).

Destacamos a importância da biópsia hepática no paciente submetido a cirurgia bariátrica como preconizam Cazzo & Chaim (63), no Serviço de Cirurgia Bariátrica e Metabólica da Universidade Estadual de Campinas.

Nesta mesma linha de pesquisa, abrimos um leque de questões que podem servir para pesquisas futuras.

Será que, se essa mesma pesquisa fosse realizada utilizando ratos obesos, os resultados seriam os mesmos? E se fossem utilizados ratos diabéticos?

O conhecimento científico é infinito, cabe a nós nunca pararmos de buscá-lo, sempre tendo como objetivos a saúde, o bem-estar e a qualidade de vida do ser humano.



## 7. CONCLUSÃO

A análise dos resultados da presente pesquisa permitiram obter as seguintes conclusões:

7.1 Houve correlação entre a porcentagem de perda ponderal com os diferentes níveis de derivação sendo maior a perda ponderal quanto mais distal a anastomose jejunoileal.

7.2. Os dados obtidos em nossa pesquisa sugerem que a disabsorção em si não é um fator isolado causador de lesão hepática, não havendo correlação significativa entre os graus de disabsorção e aparecimento ou agravamento de lesão hepática.

## 8. Referências Bibliográficas

1. Kremen AJ, Linner JH, Nelson CH. An experimental evaluation of the nutritional importance of proximal and distal small intestine. *Ann Surg.* 1954; 140:439-448.
2. Payne J.H. and DeWind L.T. Surgical treatment of obesity. *Am J Surg.* 1969; 118: 14.
3. Scott H.W., Dean R., Shull H.J. et al. Considerations in the use of jejunioleal bypass in patients with morbid obesity. *Ann Surg.* 1973; 177: 323–335.
4. Singh D, Laya AS, Clarkston WK, Allen MJ. Jejunioleal by-pass: a surgery of the past and a review of its complications. *World J Gastroenterol.* 2009;14; 15(18):2277-2279.
5. Meinhardt NG, Souto KE, Ulbrich-Kulczynski JM, Stein AT. Hepatic outcomes after jejunioleal bypass: is there a publication bias? *Obes Surg.* 2006; 16(9):1171-1178.
6. Chaib S.A., Haddad M., Segovia F.B., Hanna A., Chaib E. Derivação jejunioleal no tratamento da obesidade excessiva. Análise de 36 casos. *AMB rev. Assoc. Med.* 1982; 28(5): 21-25.
7. Garrido Jr A.B. Cirurgia em obesos mórbidos- Experiência pessoal. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2000; 44(1): 106-113.
8. Vyberg M, et al. Pattern of progression in liver injury following jejunioleal bypass for morbidity obesity. *Liver.* 1987; 7(5): 251-276.
9. Balsiger BM, Murr, MM, Poggio, JL, and Sarr, M.G. Bariatric surgery (surgery for weight control in patients with morbid obesity). *Med Clin N Am.* 2000; 84: 477–489.
10. O' Leary. Liver failure after jejunioleal bypass: an appraisal. *Int J Obes.* 1981; 5(5):531-535.
11. Haines NW, Baker AL, Boyer JL, Glagov S, Schneir H, Jaspan J, Ferguson DJ. Prognostic indicators of hepatic injury following jejunioleal bypass performed for refractory obesity: a prospective study. *Hepatology.* 1981; 1(2):161-167.

12. Marubbio AT, Rucker RD, Jr, Schneider PD, Horstman JP, Varcon RL, Buchwald H. The liver in morbid obesity and following bypass surgery for obesity. *Surg Clin North Am.* 1979; 59(6):1079-1093.
13. Andrade EO, Garção LB. Resolução do Conselho Federal de Medicina do Brasil, n 1766/05. *Diário Oficial da União* 2005 seção 1:114.
14. Antanavicius G, Rezyani M, Sucandy I. One-stage robotically assisted laparoscopic diversion with duodenal switch: analysis of 179 patients. *Surg Obes Relat Dis.* 2015; 11(2):367-371.
15. Pareja JC, Pilla VF, Callejas-Neto F, Coelho-Neto JS, Chaim EA, Magro DO. Gastric bypass Roux-en-Y gastrojejunostomy- conversion to distal gastrojejunostomy for weight loss failure- experience in 41 patients. *Arq Gastroenterol.* 2005; 42(4):196-200.
16. Zilberstein B, Alex de Brito CG, Henrique Joaquim DG, Carballo MG. Banda gástrica com desvio jejunoileal: nova opção técnica em cirurgia bariátrica. *ABCD Arq Bras Cir Dig* 2010 ;23(2):105-107.
17. Kuzmak LI. A review of Seven Years' Experience with silicone gastric banding. *Obes Surg.* 1991; 1(4):403-408.
18. Oria, HE. Gastric banding for morbid obesity. *Eur j Gastroenterol Hepatol.* 1999; 11:105-114.
19. Mason, E.E. Vertical banded gastroplasty for obesity. *Arch Surg.* 1984; 117: 701–706.
20. Scopinaro N, Gianetta E, Civalleri D, Bonalumi U, Bachi V. Biliopancreatic by-pass for obesity: initial experience in man. *Br J Surg.* 1979;66(9):613-7.
21. Hess DS, et al. Biliopancreatic diversion with a duodenal switch *Obes Surg* Jun 1998; 8 (3): 267-282.
22. Capella JF, Capella RF. The weight reduction operation choice: vertical banded gastroplasty or gastric bypass. *Am J Surg.* 1996; 171:74-79.
23. Fobi MA, Lee H, Igwe D Jr., Felahy B, James E, Stanczyk M, Tambi J, Eyoung P. Revision on failed gastric bypass to distal Roux-en-Y gastric bypass: a review of 65 cases. *Obes Surg.* 2001; 11:190-5.
24. Vills CE Jr. Long-term follow-up of jejunoileal bypass patients with preoperative cirrhosis of the liver. *Obes Surg.* 1994; 4:37-39.

25. Hocking MP, Davis GL, Frazini DA et al. Long-term consequences after jejunoileal bypass for morbidly obese. *Dig Dis Sci.* 1998; 43:203-215.
26. Luyckx FH, Desai C, Thiry A, Dewé W, Scheen AJ, Gieles JE, Lefèbyre PJ. Liver abnormalities in severely obese subjects: effect of drastic weight loss after gastroplasty. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998; 22(3):222-226.
27. Mummadi RR, Kasturi KS, Chennarddygari S, Sood GK. Effect of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008; 6(12):1396-1420.
28. Sasaki A, Nitta H, Otsuka K, Umemura A, Baba S, Obuchi T, Washi G. Bariatric surgery and non-alcoholic Fatty liver disease: current and potential future treatments. *S Front Endocrinol (Lausanne).* 2014; 5:164.
29. Mathurin P, Hollebecque A, Arnalsteen L, Buob D, Leteurtre E, Caiazzo R, Pigeyre M, Verkindt H, Dharancy S, Louvet A, Romon M, Pattou F. Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease. *Gastroenterology.* 2009; 137(2):532-540.
30. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J, Raverdy V, Leteurtre E, Dharancy S, Louvet A, Rommon M, Duhamel A, Pattou F, Mathurin P. Bariatric surgery reduces features of nonalcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Gastroenterology.* 2015; 149(2):379-388.
31. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature.* 2000; 404(6778): 635-643.
32. Eisenmann JC, Katzmarzyk PT, Perusse L, Tremblay A, Despes JP, Bouchard C. Aerobic fitness, body mass index, and CVD risk factors among adolescents: the Quebec Family study. *International Journal of Obesity.* 2005; 29(9):1077-1083.
33. Milic S, Lulic D, Stimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol.* 2014 28; 20(28):9330-9337.
34. Bower G, Toma T, Harling L, Jiao LR, Efthimiou E, Darzi A, Athanasiou T, Ashrafian H. Bariatric surgery and Non-alcoholic fatty liver disease: a

- systematic review of liver biochemistry and histology. *Obes Surg.* 2015; 25(12):2280-2289.
35. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest.* 2004; 114(2):147-152.
  36. Farrell GC, Van Rooyen D, Gan L, Chitturi S. Nash is an inflammatory disorder: pathogenic, prognostic and therapeutic implications. *Gut Liver.* 2012; 6(2):149-171.
  37. Compare D, Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Carteni M, Nardone G. Gut-liver axis: the impact of gut microbiota on nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012 ;22(6)471-6
  38. Vajro P, Paoletta G, Fasano A. Microbiota and gut-liver axis: their influences on obesity and obesity-related liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013; 56(5)461-468.
  39. Xourafas D, Ardetani A, Ashley SW, Tavakkoli A. Impact of weight-loss surgery and diabetes status on serum ALT level. *Obes Surg.* 2012; 22(10):1540-1547.
  40. Reaven GM. Why Syndrome X ? From Harold Himsworth to the insulin resistance syndrome. *Cell Metab.* 2005; 1(1):9-14.
  41. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol.* 1999; 94(9):2467-2474.
  42. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116(6):1413-1419.
  43. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41:1313-1321.
  44. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cursi S, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the

- American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol.* 2012; 107(6):811-8126.
45. Freitas LAR, Cotrim HP. Esteato-hepatite não alcoólica (NASH). Atlas Histológico. Salvador: Nova Agência e Lab. Zambon; 2006.
46. Buchwald H, Onien DM. Metabolic/bariatric surgery worldwide 2008. *Obes Surg.* 2009; 19(12):1605-1611.
47. National Institutes of Health. NIH consensus statement. Gastrointestinal surgery for severe obesity. <http://consensus.nih.gov/1991/1991gisurgeryobesity084html.htm>. Accessed 2, 2010.
48. Lima CV, Silva HB. Resolução do Conselho Federal de Medicina do Brasil, n 2.131/2015. Diário Oficial da União 2016 seção 1:72.
49. Bristol JB, Wells M., Williamson RCN. Adaptation to jejunoileal bypass promote experimental colorectal carcinogenesis. *BR J Surg.* 1984;71(2): 123-126
50. Brown H e Prescott R (2006). *Applied Mixed Models in Medicine.* 2ª ed. John Wiley & Sons Ltda. Inglaterra.
51. Conover WJ (1999). *Practical Nonparametric Statistics.* 3ª ed. John Wiley & Sons Inc. Nova Iorque.
52. Conover WJ, Iman RL Rank Transformations as a Bridge between Parametric and Nonparametric Statistics. *The American Statistician*, Vol. 35, No. 3. (1981), 124-129.
53. Schreuder TC, Verwer BJ, van Nieuwkerk CM, Mulder CJ. Nonalcoholic fatty liver disease: an overview of current insights in pathogenesis, diagnosis and treatment. *World J Gastroenterol.* 2008; 14(16):2474-2486.
54. Mayo Ossorio MA, Pacheco Garcia JM, Pérez Gomar D, Bazán Hiojo Mdel C, Vilchez Lopez FJ, Aguilar Diosdad M, Fernández Serrano JL. Long-term fulminant hepatic failure in patients undergoing gastric bypass for morbid obesity. *Nutr Hosp.* 2015; 32(1):430-434.
55. Rao RS, Rao V, Kini S. Animal models in bariatric surgery – A review of the surgical techniques and postsurgical physiology. *Obes Surg.* 2010; 20(9):1293-1305.

56. Hayward BE, Zavanelli M, Furano AV. Recombination creates novel L1 (LINE-1) elements in *Rattus norvegicus*. *Genetics*. 1997; 146(2):641-654.
57. Krinke GJ, Kaufmann W, Mahrous AT, Schaetti P. Morphologic characterization of spontaneous nervous system tumors in mice and rats. *Toxicol Pathol*. 2000;28(1):178-92
58. Verneau O, Catzeflis F, Furano AV. Determination of the evolutionary relationships in *Rattus sensu lato* (Rodentia: Muridae) using L1 (LINE-1) amplification events. *J Mol Evol*. 1997; 45(4):424-436.
59. Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes LR. Rat's versus human's age: what is the relationship? *ABCD Arq Bras Cir Dig*. 2012;25(1):49-51
60. Pontiroli AE, Pizzocri P, Librenti MC, Vedani P, Marchi M, Cucchi E, Orena C, Paganelli M, Giacomelli M, Ferla G, Folli F. Laparoscopic adjustable gastric banding for the treatment of morbid (grade 3) obesity and its metabolic complications: a three-year study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:3555–3561.
61. Kendrick ML, Dakin GF. Surgical approaches to obesity. *Mayo Clin Proc*. 2006; 81(10):18-24.
62. Colquitt JL, Pickett K, Loveman E, Frampton GK. Surgery for weight loss in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014.8; 8:CD003641.
63. Cazzo E, de Felice Gallo F, Pareja JC, Chaim EA. Nonalcoholic fatty liver disease in morbidly obese subjects: correlation among histopathologic findings, biochemical features, and ultrasound evaluation. *Obes Surg*. 2014; 24(4):668-669.
64. Furuya CK Jr, de Oliveira CP, de Mello ES, Faintuch J, Raskovski A, Matsuda M, Vezozzo DC, Halpem A, Garrido AB Jr, Alves VA, Carrilho FJ. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22(4):510-514.
65. Scopinaro N, Marinari GM, Camerini GB, Papadia FS, Adami GF. Specific effects of biliopancreatic diversion on the major components of metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2005 ;28:2406–2411.
66. Rissstad H, Sovik TT, Engtrom M, Aasheim ET, Fagerland NW, Oslén MF, Krinstinsson JA, le Roux CW, Bohner T, Birkeland KL, Mala T, Olbers T. Five-year outcomes after laparoscopic gastric bypass and laparoscopic duodenal switch in patients with body mass index of 50 to 60: a randomized clinical trial. *AMA Surg*. 2015; 150(4):352-361.

67. Seki Y, Kasamara K, Umezawa A, Kurokawa Y. Laparoscopic sleeve gastrectomy with duodenal jejunal bypass for type 2 diabetes mellitus. *Obes Surg.* 2016; 9.
68. Melissas J, Peirasmakis D, Vasileios L, Papadakis J. Is a simple Food-diverting operation the solution for type 2 diabetes treatment? Experimental study in a non-obese rat model. *Obes Surg.* 2015; 2 (*ahead of print*).
69. Cazzo E, Jimenez LS, Gallo FF, Pareja JC, Chaim EA. Influence of type 2 diabetes mellitus on liver histology among morbidly obese individuals. A cross-sectional study. *Sao Paulo Med J.* 2016; 19 (*ahead of print*).



## 9. APÊNDICES



CEUA/Unicamp

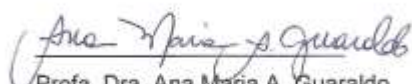
Comissão de Ética no Uso de Animais  
CEUA/Unicamp

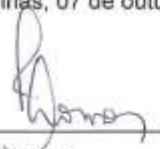
CERTIFICADO

Certificamos que o projeto "Estudo experimental das alterações hepáticas e laboratoriais em ratos submetidos à operação de derivação jejunoileal" (protocolo nº 3198-1), sob a responsabilidade de Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo / Fabio Cavalheiro Doria, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e com a legislação vigente, LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, e o DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP - em 07 de outubro de 2013.

Campinas, 07 de outubro de 2013.

  
Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo  
Presidente

  
Fátima Atonso  
Secretária Executiva

CEUA/UNICAMP  
Caixa Postal 6109  
13093-970 Campinas, SP - Brasil

Telefone: (19) 3521-6359  
E-mail: [comisib@unicamp.br](mailto:comisib@unicamp.br)  
<http://www.ib.unicamp.br/ceea/>

## **Metodologia Estatística**

Análise descritiva com apresentação de tabelas de frequências para variáveis categóricas e medidas de posição e dispersão para variáveis numéricas.

Para comparação de proporções foi utilizado o teste exato de Fisher.

Para comparação das intensidades ao longo do tempo ou ajustando para a medida pré foi utilizado o método das Equações de Estimação Generalizadas (EEG).

Para comparação do peso pré-operatório entre os grupos foi utilizado teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn para localização das diferenças.

Para comparação do peso pós-operatório, ajustando para a medida pré foi utilizada a ANOVA com transformação por postos seguida pelo teste de Tukey-Kramer para localização das diferenças.

Cálculo do poder *a posteriori* para cada variável.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi 5%.

Definições:

**Erro Tipo-I:** rejeitar a hipótese nula quando esta é verdadeira. A probabilidade de cometer este erro é denotada por  $\alpha$  e recebe o nome de nível de significância do teste.

**Erro Tipo-II:** aceitar a hipótese nula quando esta é falsa. A probabilidade de cometer este erro é denotada por  $\beta$ .

**Poder do teste:** corresponde a  $1-\beta$  (probabilidade de rejeitar a hipótese nula quando esta é falsa) e indica a probabilidade de decisão correta baseada na hipótese alternativa. Geralmente é interpretado como a chance de detectar uma real

diferença entre as médias ou proporções. Por exemplo, um poder de 80% significa que, se de fato houver alguma diferença, haverá uma probabilidade de 80% de detectá-la.

## Resultados

Quadro 1 - Análise descritiva e comparações das avaliações **iniciais** entre os grupos (DJ2VI=DERIVAÇÃO JEJUNOILEAL À 2CM DA VÁLVULA ILEOCECAL; DJ30VI=DERIVAÇÃO JEJUNOILEAL À 30CM DA VÁLVULA ILEOCECAL;DJ60VI= DERIVAÇÃO JEJUNOILEAL À 60CM DA VÁLVULA ILEOCECAL;SHAM) .

Variável valor-p	GRUPO = DJ2VI (N=12)	GRUPO = DJ30VI (N=11)	GRUPO = DJ60VI (N=10)	GRUPO = SHAM (N=11)	Total (N=44)
<b>Esteato-hepatite</b>					
Estaetohep					
N	12 (100.0%)	11 (100.0%)	10 (100.0%)	11 (100.0%)	44
(100.0%)	-				
Total	12	11	10	11	44
<b>ESTEATOSE MACROVACUOLAR</b>					
ESTEATOSEMACHRO					
0	12 (100.0%)	11 (100.0%)	10 (100.0%)	11 (100.0%)	44
(100.0%)	-				
Total	12	11	10	11	44
<b>ESTEATOSE MICROVACUOLAR</b>					
ESTEATOSEMACHRO					
0	12 (100.0%)	10 (90.9%)	9 (90.0%)	10 (90.9%)	41
(93.2%)	0.6910 <sup>3</sup>				
1	0 (0.0%)	1 (9.1%)	1 (10.0%)	1 (9.1%)	3
(6.8%)					
Total	12	11	10	11	44
<b>BALONIZAÇÃO HEPATOCELULAR</b>					
BALONIZACAOHEP					
0	11 (91.7%)	11 (100.0%)	10 (100.0%)	11 (100.0%)	43
(97.7%)	-				
// 1	1 (8.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1
(2.3%)					
Total	12	11	10	11	44
<b>INFLAMAÇÃO ACINAR/ INTENSIDADE</b>					
INFLACINAR					
0	12 (100.0%)	7 (63.6%)	9 (90.0%)	10 (90.9%)	38
(86.4%)	0.0863 <sup>3</sup>				
1	0 (0.0%)	4 (36.4%)	1 (10.0%)	1 (9.1%)	6
(13.6%)					
Total	12	11	10	11	44
<b>INFLAMAÇÃO PORTAL/ INTENSIDADE</b>					
INFLPORTAL					
0	6 (50.0%)	4 (36.4%)	8 (80.0%)	11 (100.0%)	29
(65.9%)	0.0038 <sup>3</sup>				
1	6 (50.0%)	7 (63.6%)	2 (20.0%)	0 (0.0%)	15
(34.1%)					
Total	12	11	10	11	44
<b>PSEUDO-INCLUSÃO NUCLEAR/ INTENSIDADE</b>					
PSEUDOINCLN					
0	12 (100.0%)	11 (100.0%)	10 (100.0%)	11 (100.0%)	44
(100.0%)	-				
Total	12	11	10	11	44
<b>ESTADIAMENTO</b>					
ESTADIAMENTO					
0	12 (100.0%)	7 (63.6%)	10 (100.0%)	11 (100.0%)	40
(90.9%)	0.0064 <sup>3</sup>				
1A	0 (0.0%)	4 (36.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	4
(9.1%)					
Total	12	11	10	11	44
<b>SOBRECARGA DE FERRO</b>					
SOBRECFFE					
0	12 (100.0%)	11 (100.0%)	10 (100.0%)	11 (100.0%)	44
(100.0%)	-				
Total	12	11	10	11	44

<sup>3</sup> baseado no teste exato de Fisher (based on Fisher's exact test)

Quadro 2 - Análise descritiva e comparações das avaliações finais entre os grupos.

Variável		GRUPO = DJ2VI (N=12)	GRUPO = DJ30VI (N=11)	GRUPO = DJ60VI (N=10)	GRUPO = SHAM (N=11)	Total (N=44)
valor-p poder						
Estaetohep						
LEVE		0 (0.0%)	3 (27.3%)	2 (20.0%)	1 (9.1%)	6
(13.6%)	0.20 <sup>3</sup>	0.34				
N		12 (100.0%)	8 (72.7%)	8 (80.0%)	10 (90.9%)	38
(86.4%)						
Total		12	11	10	11	44
ESTEATOSEMACRO						
0		12 (100.0%)	8 (72.7%)	9 (90.0%)	11 (100.0%)	40
(90.9%)	0.064 <sup>3</sup>	0.54				
1		0 (0.0%)	3 (27.3%)	1 (10.0%)	0 (0.0%)	4
(9.1%)						
Total		12	11	10	11	44
ESTEATOSEMICRO						
0		12 (100.0%)	10 (90.9%)	6 (60.0%)	9 (81.8%)	37
(84.1%)	-					
1		0 (0.0%)	1 (9.1%)	4 (40.0%)	2 (18.2%)	7
(15.9%)						
Total		12	11	10	11	44
BALONIZACAOHEP						
0		11 (91.7%)	6 (54.5%)	0 (0.0%)	3 (27.3%)	20
(45.5%)	-					
1		1 (8.3%)	4 (36.4%)	7 (70.0%)	5 (45.5%)	17
(38.6%)						
2		0 (0.0%)	1 (9.1%)	1 (10.0%)	2 (18.2%)	4
(9.1%)						
3		0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (20.0%)	1 (9.1%)	3
(6.8%)						
Total		12	11	10	11	44
INFLACINAR						
0		9 (75.0%)	4 (36.4%)	1 (10.0%)	7 (63.6%)	21
(47.7%)	-					
1		3 (25.0%)	7 (63.6%)	8 (80.0%)	3 (27.3%)	21
(47.7%)						
2		0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (10.0%)	1 (9.1%)	2
(4.5%)						
Total		12	11	10	11	44
PSEUDOINCLN						
0		12 (100.0%)	11 (100.0%)	10 (100.0%)	11 (100.0%)	44
(100.0%)	-					
Total		12	11	10	11	44
SOBRECIFE						
0		11 (91.7%)	11 (100.0%)	10 (100.0%)	10 (90.9%)	42
(95.5%)	1.00 <sup>3</sup>					
1		1 (8.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (9.1%)	2
(4.5%)						
Total		12	11	10	11	44

<sup>3</sup> based on Fisher's exact test

Quadro 3 - Análise descritiva e resultados das Equações de Estimação Generalizadas (EEG) para comparação das variáveis entre grupos e tempos.

----- grupo=SHAM -----					----- grupo=DJ2VI -----					
pre	pos					pre	pos			
Frequency				Total	Frequency				Total	
Percent		0	1		Percent		0			
-----+-----					-----+-----					
	0		8		2		10			
		72.73		18.18		90.91				
-----+-----					-----+-----					
	1		1		0		1			
		9.09		0.00		9.09				
-----+-----					-----+-----					
Total		9		2		12			12	
		81.82		18.18		100.00			100.00	
-----+-----					-----+-----					
grupo=DJ30VI -----					grupo=DJ60VI -----					
pre	pos					pre	pos			
Frequency				Total	Frequency				Total	
Percent		0	1		Percent		0	1		
-----+-----					-----+-----					
	0		9		1		10			
		81.82		9.09		90.91				
-----+-----					-----+-----					
	1		1		0		1			
		9.09		0.00		9.09				
-----+-----					-----+-----					
Total		10		1		11			11	
		90.91		9.09		100.00			100.00	
-----+-----					-----+-----					
					Total					
					6					
					4					
					10					
					60.00					
					40.00					
					100.00					

ESTEATOSE MICROVACUOLAR (modelando a proporção de "1") excluindo grupo DJ2VI

Efeito valor-p

tempo (posxpre) 0.2059

Grupo 0.3111

Poder=0.85

----- grupo=SHAM -----					----- grupo=DJ2VI -----					
pre	pos				pre	pos				
Frequency		0	1	2	3	Frequency		0	1	Total
Percent						Percent				
Total	-----+-----+-----+-----+-----+				Total	-----+-----+-----+-----+				
11	0	3	5	2	1	0	10	1	11	
100.00	27.27	45.45	18.18	9.09		83.33	8.33	91.67		
-----+-----+-----+-----+-----+					-----+-----+-----+-----+					
Total	3	5	2	1	Total	11	1	12		
11	27.27	45.45	18.18	9.09	91.67	8.33	100.00			
100.00					100.00					
----- grupo=DJ30VI -----					----- grupo=DJ60VI -----					
pre	pos				pre	pos				
Frequency		0	1	2	Frequency		1	2	3	
Percent					Percent					
Total	-----+-----+-----+-----+				Total	-----+-----+-----+-----+				
11	0	6	4	1	0	7	1	2		
100.00	54.55	36.36	9.09		70.00	10.00	20.00			
-----+-----+-----+-----+-----+					-----+-----+-----+-----+					
Total	6	4	1		Total	7	1	2		
11	54.55	36.36	9.09		70.00	10.00	20.00			
100.00					100.00					

BALONIZAÇÃO HEPATOCELULAR (modelando 3 x 2 x 1 x 0)  
 Efeito valor-p  
 tempo (posxpre) <0.0001  
 Grupo 0.0008 (DJ2VI≠SHAM (p=0.0097); DJ2VI≠DJ60VI (p=0.0007); DJ30VI≠DJ60VI (p=0.0062))  
 Poder>0.90

----- grupo=SHAM -----					----- grupo=DJ2VI ----					
pre	pos				pre	pos				
Frequency					Frequency				Total	
Percent		0	1	2	Percent		0	1	Total	
Total					0		9		3	12
		63.64	18.18	9.09		75.00		25.00		100.00
10		0	7	2		9	3	12		
		63.64	18.18	9.09		75.00	25.00	100.00		
90.91										
1		1	0	1		0	1	0		
		0.00	9.09	0.00		0.00	9.09	0.00		
9.09										
Total		7	3	1						
11		63.64	27.27	9.09						
100.00										

----- grupo=DJ30VI -----					----- grupo=DJ60VI -----				
pre	pos				pre	pos			
Frequency					Frequency				Total
Percent		0	1	Total	Percent		0	1	2
Total				7	Total				
		18.18	45.45	63.64	0		1	7	1
1		1	2	4	9		10.00	70.00	10.00
		18.18	18.18	36.36	90.00				
Total		4	7	11	1		0	1	0
		36.36	63.64	100.00			0.00	10.00	0.00
					10.00				
					Total		1	8	1
					10		10.00	80.00	10.00
					100.00				

INFLAMAÇÃO ACINAR/ INTENSIDADE (modelando 2 x 1 x 0)  
 Efeito valor-p  
 tempo (posxpre) **0.0002**  
 Grupo **0.0050** (DJ2VI≠ DJ30VI (p=0.0030); DJ2VI≠DJ60VI (p=0.0009))

Poder=0.70



----- grupo=SHAM -----				----- grupo=DJ2VI -----			
pre	pos			pre	pos		
Frequency				Frequency			
Percent			Total	Percent			Total
	0	1	11		0	3	6
	9.09	90.91	100.00		25.00	25.00	50.00
Total	1	10	11		1	2	6
	9.09	90.91	100.00		16.67	33.33	50.00
				Total	5	7	12
					41.67	58.33	100.00

----- grupo=DJ30VI -----				----- grupo=DJ60VI -----			
pre	pos			pre	pos		
Frequency				Frequency			
Percent			Total	Percent			Total
	0	1	3		0	1	8
	0.00	33.33	100.00		10.00	70.00	80.00
Total	0	3	3		1	0	2
	0.00	100.00	100.00		0.00	20.00	20.00
4	1	0	1	Total	1	9	10
36.36	27.27	9.09	0.00		10.00	90.00	100.00
+							
7	0.00	54.55	9.09				
63.64							
+							
Total	3	7	1				
11	27.27	63.64	9.09				
100.00							

INFLAMAÇÃO PORTAL/ INTENSIDADE (modelando 3 x 1 x 0)  
 Efeito valor-p\*  
 Grupo **0.0489** (DJ2VI≠ SHAM (p=0.0210); DJ2VI≠DJ60VI (p=0.0389))

\*ajustando para a medida pré.

Poder=0.27

----- grupo=SHAM -----				----- grupo=DJ2VI -----			
------------------------	--	--	--	-------------------------	--	--	--

<pre> pre      pos Frequency   Percent          0       1A  Total -----+-----+-----+           0        10        1        11             90.91    9.09   100.00 -----+-----+-----+ Total      10      1      11           90.91  9.09 100.00 </pre>	<pre> pre      pos Frequency   Percent          0  Total -----+-----+           0        12        12             100.00   100.00 -----+-----+ Total      12      12           100.00 100.00 </pre>
<pre> ----- grupo=DJ30VI ----- pre      pos Frequency   Percent          0  Total -----+-----+           0        7        7             63.64   63.64 -----+-----+           1A       4        4             36.36   36.36 -----+-----+ Total      11      11           100.00 100.00 </pre>	<pre> ----- grupo=DJ60VI ----- pre      pos Frequency   Percent          0       1A  Total -----+-----+-----+           0        7        3        10             70.00   30.00   100.00 -----+-----+-----+ Total      7      3      10           70.00 30.00 100.00 </pre>
<p>ESTADIAMENTO (modelando 1A x 0)  Efeito                    valor-p*  Grupo                    0.7166  *ajustando para a medida pré.</p>	



## **Programa Computacional**

SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.4. SAS Institute Inc, 2002-2012, Cary, NC, USA.