



## Doença hepática gordurosa não alcoólica: patogênese e achados histológicos com ênfase nas alterações mitocondriais

*Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and histological findings, with emphasis on mitochondrial alterations*

Gustavo Henrique da SILVA<sup>1</sup>  
Cecilia Amelia Fazzio ESCANHOELA<sup>1</sup>

### RESUMO

A esteatose hepática não relacionada ao alcoolismo pode ocorrer isoladamente ou como parte da doença hepática gordurosa não alcoólica, abrangendo amplo espectro de alterações morfológicas e variando de esteatose até estádios mais graves (acompanhados por fibrose), podendo chegar à cirrose. A esteatose hepática não relacionada ao alcoolismo tem grande importância clínica na atualidade não só por sua elevada prevalência (15% a 25% na população geral e superior a 80% entre obesos e diabéticos), mas também pela diversidade de condições relacionadas, tais como fatores nutricionais, hepatite pelo vírus C, doenças metabólicas, toxicidade por drogas etc. As alterações histológicas e a história natural da doença provavelmente reflitam um processo multifatorial complexo em que o ambiente genético tem grande importância uma vez que não se compreende porque alguns pacientes têm somente esteatose, enquanto outros desenvolvem esteato-hepatite, cirrose ou carcinoma hepatocelular. A fim de compreender melhor sua patogênese, vários são os artigos que correlacionam esteatose hepática a alterações mitocondriais (aumento do tamanho mitocondrial, da densidade, alterações na matriz e cristas e presença de megamitocôndrias com inclusões cristalinas), sendo a identificação precoce de formas de esteatose com con-

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Departamento de Patologia. Av. Dr. Shigeo Mori, 1352, Cidade Universitária Zeferino Vaz, 13083-970, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: C.A.F. ESCANHOELA. E-mail: <fazzio@fcm.unicamp.br>.

mitante comprometimento mitocondrial de importância fundamental no prognóstico da doença. A esteatose microvesicular, na medida em que se relaciona a essas alterações, pode corresponder à lesão inicial do amplo espectro presente na esteatose hepática não relacionada ao alcoolismo, com uma pior evolução clínica.

**Termos de indexação:** Doença hepática gordurosa não alcoólica. Fígado gorduroso. Mitocondrias hepática. Hepatopatia.

## ABSTRACT

*Hepatic steatosis unrelated to alcoholism may occur either by itself or as part of nonalcoholic fatty liver disease. This disease encompasses a wide spectrum of morphologic alterations, ranging from steatosis to a more severe stage, accompanied by fibrosis, which may lead to cirrhosis. Nonalcoholic fatty liver disease is very important in current clinical practice. First, it has a high prevalence rate, affecting from 15% to 25% of the general population and more than 80% of obese and diabetic patients. Second, there is a diversity of related conditions, such as nutritional factors (malnutrition, total parenteral nutrition), hepatitis C, metabolic disease (Wilson's disease, glycogenosis, lipodystrophy and others) and drug toxicity (valproate, amiodarone, etc.). Histological changes and the natural history of nonalcoholic fatty liver disease probably reflect a complex multifactorial process in which the genetic environment has considerable importance, since it is still unknown why some patients have only steatosis while others develop steatohepatitis, cirrhosis or hepatocellular carcinoma. In order to better understand the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease, there are several articles correlating fatty liver to mitochondrial changes (increase in mitochondrial size and density, changes in the mitochondrial matrix and cristae as well as the presence of megamitochondria with crystalline inclusions). Early identification of the various forms of steatosis with concomitant mitochondrial changes may have a fundamental importance in the prognosis of the disease. Additionally, microvesicular steatosis, as it relates to these changes, may correspond to early histological damage in NAFLD, with a worse clinical progression of the disease.*

**Indexing terms:** Nonalcoholic fatty liver disease. Fatty liver. Mitochondria, liver. Hepatic disease.

## INTRODUÇÃO

A partir da década de 1980, alterações morfológicas hepáticas relacionadas à esteatose, porém com etiologias diversas, excetuando-se o álcool, passaram a ser denominadas Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA). Conceitualmente, trata-se de doença hepática caracterizada por esteatose que, a partir de algum momento, evolui desfavoravelmente, com inflamação, balonização e fibrose perissinusoidal e/ou portal (sendo então chamada de esteato-hepatite), podendo culminar com o desenvolvimento de cirrose. A esteatose, portanto, pode tanto ser uma condição transitória

em hepatócitos, como progredir, caracterizando evolução desfavorável da DHGNA.

A esteatose hepática pode se relacionar a alterações mitocondriais, a saber: aumento da densidade com ocasional aumento do tamanho mitocondrial<sup>1</sup>, alterações da matriz e cristas<sup>2</sup>, proliferação mitocondrial na esteatose microvesicular<sup>3</sup> e megamitocôndrias com inclusões cristalinas na esteato-hepatite não alcoólica<sup>4</sup>.

A mitocôndria é o local de ocorrência de diversos processos metabólicos, tais como o ciclo do ácido tricarbóxico,  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, síntese de ureia e outros, utilizando-se de combustíveis como

glicose e ácidos graxos para obtenção de adenosina trifosfato. Qualquer distúrbio num desses mecanismos pode causar graves danos à célula e, consequentemente, ao tecido.

Este trabalho traz uma revisão da literatura sobre as alterações mitocondriais na esteatose hepática e sua relação com a etiologia e progressão da DHGNA.

## DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

A DHGNA, termo clínico-patológico, abrange um amplo espectro de doenças que vai desde o acúmulo de lípidos em hepatócitos até cirrose, passando por estágios de esteato-hepatite (esteatose com inflamação e fibrose)<sup>5</sup>. A prevalência da DHGNA na população geral é estimada entre 3% e 24%<sup>6</sup> e superior a 80% em indivíduos obesos e diabéticos<sup>7</sup> (Quadro 1).

Esse termo foi utilizado quase que exclusivamente para a doença no adulto, entretanto, com o aumento de sua prevalência em todos os segmentos da população, sua utilização se tornou mais abran-

**Quadro 1.** Prevalência da DHGNA em diferentes populações.

População	Intervalo de prevalência (%)	Estudos publicados
Mundial	3 - 24	Browning <i>et al.</i> <sup>5</sup> Clark <sup>8</sup> Neuschwander-Tetri & Caldwell <sup>9</sup>
Itália	20 - 25	Bedogni <i>et al.</i> <sup>10</sup>
Israel	30	Amarapurkar <i>et al.</i> <sup>11</sup>
Coreia	16	Park <i>et al.</i> <sup>12</sup>
Alemanha	14	Bellentani <i>et al.</i> <sup>13</sup>
Japão	14	Nomura <i>et al.</i> <sup>14</sup>
China	11,7 - 15	Zhou <i>et al.</i> <sup>6</sup> Marchesini <i>et al.</i> <sup>15</sup>

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica.

gente<sup>5</sup>, sendo utilizado para todas as faixas etárias, incluindo crianças<sup>16</sup>. Nessas, a DHGNA é caracterizada pela ausência de identificação de alterações inatas no metabolismo dos lípidos<sup>17</sup>, ocorrendo principalmente no gênero masculino, com vaga dor abdominal, como razão inicial para avaliação clínica<sup>17</sup>. Apesar da alta ocorrência da DHGNA na obesidade e no diabetes, muitos outros diagnósticos podem com elas estar relacionados (Quadro 2).

**Quadro 2.** Parâmetros utilizados para o diagnóstico da DHGNA.

Diagnóstico	Características
Clínico	- Assintomáticos - Fadiga - Incômodo ou dor abdominal no quadrante direito superior. Mais de 50% dos pacientes apresentam hepatomegalia
Laboratorial	- Elevação de ALT e AST geralmente com níveis de uma a quatro vezes além do limite da normalidade - Relação de AST/ALT é geralmente maior que 1 (podendo ser maior que 2) - Fosfatase alcalina pode ter elevação de duas vezes além do limite da normalidade - $\gamma$ -GT pode estar elevada
Por imagem (Ultrassonografia e tomografia)	- Identificação de gordura infiltrada no fígado - Hepatomegalia
Histológico	- Esteatose microvesicular ou macrovesicular - Balonização - Necroinflamação - Fibrose perissinusoidal inicialmente na zona 3 acinar - Cirrose
Ultraestrutural	- Alterações mitocondriais: - Aumento numérico (alteração oncítica) - Hipertrofia - Megamitocôndrias com inclusões paracristalinas - Formato irregular e cristas atenuadas

As lesões morfológicas observadas na DHGNA são pouco distinguíveis daquelas induzidas pelo álcool, sendo as diferenças baseadas principalmente em argumentos clínicos e bioquímicos, além da avaliação do usuário de álcool: os pacientes com hepatite alcoólica são, geralmente, mais doentes, apresentam níveis mais elevados de bilirrubina no soro, além de apresentarem cirrose com maior frequência<sup>18</sup>. De maneira geral, histologicamente, na DHGNA, a atividade necro-inflamatória e a fibrose são mais suaves, os corpúsculos de Mallory mais raros e os depósitos de glicogênio nuclear mais frequentes<sup>18</sup>.

## Esteatose

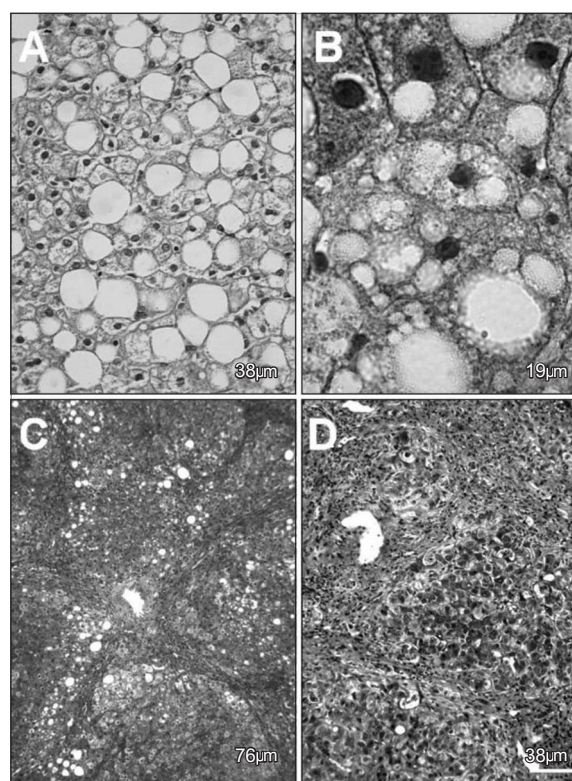
Esteatose é definida como o acúmulo anormal de triglicérides dentro de células parenquimatosas, observado com grande frequência (mas não exclusivamente) no fígado, principalmente devido ao seu envolvimento no metabolismo lipídico. Dentre as principais causas de esteatose, temos a ação de toxinas, desnutrição, diabetes *mellitus*, obesidade e abuso de álcool<sup>19</sup>.

A deposição de lípidos nas células hepáticas pode ser macrovesicular (Figura 1A), com distensão do hepatócito por um único e volumoso vacúolo e deslocamento nuclear, ou microvesicular (Figura 1B) com numerosos e menos volumosos vacúolos, mantendo-se a localização central do núcleo<sup>19</sup>. A esteatose microvesicular ocorre como resultado da alteração na  $\beta$ -oxidação mitocondrial, que conduz ao acúmulo de ácidos graxos na forma de triglicérides e formação de pequenas gotículas no citosol dos hepatócitos<sup>20</sup>. A oxidação de ácidos graxos no fígado pode ocorrer nas mitocôndrias e nos peroxissomos, sendo gerada na  $\beta$ -oxidação peroxissomal elevada quantidade de peróxido de hidrogênio não acoplado ao sistema fosforilativo<sup>5</sup>.

A esteatose microvesicular geralmente é condição aguda, ocorrendo uma pausa na  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos<sup>20</sup>, principalmente por perturbação da função mitocondrial e ribossomal, dentro e fora do fígado<sup>19</sup>. Esse tipo de esteatose apresenta maior

importância clínica, mas o fígado não é o único órgão envolvido, podendo ocorrer acúmulo de triglicérides nos túbulos renais e, ocasionalmente, no miocárdio, cérebro e pâncreas. Experimentalmente foi verificado, em porcos, que a capacidade regenerativa dos hepatócitos na esteatose macrovesicular é mais efetiva do que na esteatose microvesicular, com prognóstico menos favorável para esta última<sup>21</sup>.

A esteatose macrovesicular é tipicamente associada a distúrbio de longa duração do metabolismo hepático de lípidos; apesar de ser considerada condição benigna por Sherlock<sup>22</sup>, pode-se associá-la ao desenvolvimento de necroinflamação (esteato-hepatite), fibrose e cirrose<sup>23</sup>.



**Figura 1.** **A)** Esteatose macrovesicular: notar os grandes vacúolos dentro de cada célula tornando o núcleo excêntrico (Hematoxilina e Eosina). **B)** Esteatose microvesicular: notar que apesar dos inúmeros vacúolos dentro de cada célula, o núcleo se apresenta em sua posição central (Tricrômio de Masson). **C)** Esteato-hepatite estágio 3: notar a presença de fibrose na zona 3 com septos centro-porta e esboço de nódulos (Tricrômio de Masson). **D)** Cirrose: estágio 4 (Tricrômio de Masson).

A esteatose, de graus variados, pode ser difusa dentro do lóbulo hepático ou predominar na zona 3 acinar ao redor das veias hepáticas terminais<sup>16</sup>.

### **Esteato-hepatite**

A esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) é definida pela associação da esteatose com outras lesões hepatocelulares, essencialmente balonização e necroinflamação. Os hepatócitos balonizados são amplos, com citoplasma claro, e corpos apoptóticos podem estar presentes<sup>16</sup>. A presença de corpúsculos de Mallory, agregados intracitoplasmáticos de filamentos intermediários de citoqueratina, não é necessária para o diagnóstico da esteato-hepatite, mas pequenos, escassos e inconspícuos podem estar presentes<sup>24</sup>. Inclusões eosinofílicas, que correspondem na microscopia eletrônica a megamitocôndrias, com perda das cristas e contendo inclusões paracristalinas<sup>4</sup>, são ocasionalmente observadas no citoplasma dos hepatócitos. A intensidade da infiltração inflamatória varia com a gravidade da esteato-hepatite. A inflamação é geralmente mista, contendo linfócitos e neutrófilos em torno de hepatócitos alterados ou necróticos e/ou nas áreas portais<sup>16</sup>.

### **Fibrose e cirrose**

A presença e a extensão da fibrose são extremamente importantes para a determinação do prognóstico. A fibrose perissinusoidal é, inicialmente, discreta e predominante na zona 3 acinar. Pode haver associação com fibrose portal e peri-portal, com formação progressiva de pontes fibrosas entre as veias hepáticas terminais e áreas portais ou entre os tratos portais adjacentes (Figura 1 C). Se houver formação de nódulos hepatocelulares completos circundados por fibrose anular, está instalada a cirrose (Figura 1D). Insuficiência hepática, hipertensão portal e carcinoma hepatocelular podem complicar a doença<sup>25</sup>.

### **Patogênese da DHGNA**

A hipótese mais aceita atualmente para a patogênese da DHGNA é a dos "dois golpes", postu-

lada por Day & James<sup>26</sup>. De acordo com tal hipótese, a esteatose representa o "primeiro golpe," que aumenta a vulnerabilidade do fígado para diferentes "segundos golpes", que levam, por sua vez, à inflamação, à fibrose e à morte celular, características da esteato-hepatite não alcoólica.

A ocorrência de vários "segundos golpes" - como endotoxina e pró-oxidantes - resulta em dano hepático e mortalidade significativamente maior em ratos obesos com fígado gorduroso, comparados a ratos magros com fígados saudáveis<sup>27</sup>. Diversos fatores têm sido postulados para constituir os segundos golpes, especialmente estresse oxidativo, citocinas pró-inflamatórias e endotoxina bacteriana<sup>28</sup>. É importante destacar, entretanto, que esses mecanismos não são mutuamente exclusivos, mas quando atuam de maneira coordenada e cooperativa aceleram o desenvolvimento e a progressão de EHNA. Nos seres humanos, a gravidade da esteatose é um dos indicativos mais fortes do desenvolvimento de EHNA e a adiposidade central está associada ao aumento de citocinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo, assim como a resposta inflamatória exagerada está associada à administração de endotoxina<sup>29</sup>. Uma vez geradas, as citocinas podem causar dano direto ao fígado ou atuar indiretamente, aumentando o estresse oxidativo, que, por sua vez, pode igualmente danificar diretamente a função hepática ou atuar indiretamente, perpetuando a resposta inflamatória<sup>30</sup>. Consequentemente, nos ambientes propícios à geração de vários segundos golpes, como obesidade, um ciclo de perpetuação de agressões pode causar injúria hepática e culminar em EHNA e, progressivamente, em doença hepática grave.

Um aspecto importante da teoria de "dois golpes" é que a esteatose por si só não é causa do desenvolvimento de EHNA, mas um sensibilizante do fígado aos efeitos prejudiciais dos segundos golpes; um fator de estresse inócuo a um fígado saudável pode levar ao desenvolvimento de EHNA em um fígado esteatótico<sup>31</sup>.

## Classificação e estadiamento da DHGNA

O prognóstico da DHGNA depende da intensidade dos achados histopatológicos, tanto da atividade necroinflamatória (esteatose e necroinflamação) como do estadiamento, que reflete o padrão e a extensão da fibrose, assim como a remodelação da arquitetura<sup>32</sup>. Para tanto, algumas classificações<sup>32-34</sup> foram propostas, graduando-se esses elementos, separada ou conjuntamente (Quadro 3).

## PRINCIPAIS DISFUNÇÕES MITOCONDRIAIS NA DHGNA

A mitocôndria é a usina energética celular que gera o ATP ou o calor a partir de substratos derivados da gordura e da glicose. Os hepatócitos são, normalmente, ricos em mitocôndrias; cada célula contém, aproximadamente, 800 mitocôndrias, que ocupam aproximadamente 18% do volume celular do fígado. A mitocôndria é formada por uma dupla membrana, contendo matriz e genoma. A membrana externa é sustentada pela membrana interna, regulando o efluxo de enzimas, cátions e substratos para o citosol, além de ser o sítio de transporte específico para vários substratos que devam passar do citosol para dentro dela<sup>35</sup>. A membrana interna contém cadeias "eletrônicas" de transporte (cadeia respiratória), que aceitam elétrons gerados no ciclo do ácido cítrico e na oxidação de ácidos graxos. Nela, existem numerosos transportadores específicos

para várias moléculas e enzimas (ATP-sintases), que medeiam a fosforilação oxidativa e a síntese de ATP. A matriz mitocondrial contém enzimas do ciclo do ácido tricarboxílico, da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, da síntese de ureia e de outras vias metabólicas, além do DNA mitocondrial (DNAm), que codifica 13 polipeptídeos da cadeia respiratória<sup>35</sup>.

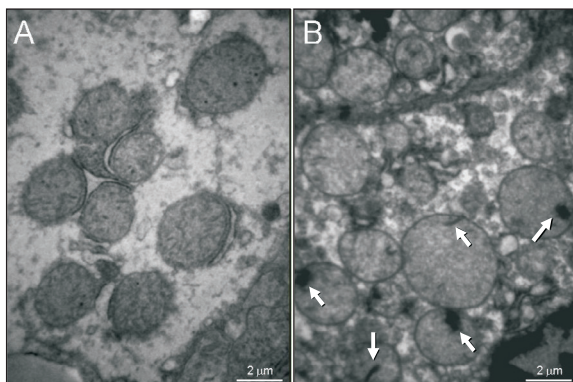
Entre as chamadas hepatopatias mitocondriais (doenças hepáticas decorrentes de alterações mitocondriais), defeitos no transporte de elétrons na cadeia respiratória são classificados por Sokol & Treem<sup>1</sup> como desordens primárias, tais como síndrome de depleção de DNA mitocondrial (SDDmt), insuficiência hepática neonatal, doença de Alper, síndrome de Pearson, defeito na oxidação de ácidos graxos e outras<sup>35</sup>. Desordens secundárias se relacionam à injúria tóxica, metais e xenobióticos e podem ser causadas por toxinas e drogas, como o fialuridine<sup>36</sup>, por acúmulo de metais, como na doença de Wilson<sup>37</sup>, síndrome de Reye<sup>38</sup>, etilismo<sup>22</sup>, colestase crônica<sup>35</sup>, toxina do *Bacillus Cereus*<sup>39</sup> entre muitos outros fatores, incluindo a EHNA, na qual observamos esteatose micro e macrovesicular, acompanhada por alterações necroinflamatórias e fibrose portal, na ausência de alcoolismo.

Embora os mecanismos responsáveis pelo acúmulo de lipídes não estejam completamente explicados, a diminuição da oxidação, a disponibilidade e o transporte aumentado no fígado e a síntese hepática aumentada de ácidos graxos provavelmente apresentem um papel significativo na pato-

**Quadro 3.** Proposta de classificação do estadiamento da DHGNA por Brunt *et al.*<sup>24</sup> e Sociedade Brasileira de Patologia (Freitas & Cotrim<sup>26</sup>).

Grau	Brunt <i>et al.</i> <sup>24</sup>	Sociedade Brasileira de Patologia (Freitas & Cotrim <sup>26</sup> )
0		Ausência de fibrose na zona 3
1	Fibrose perissinusoidal focal ou extensa na zona 3	Arquitetura lobular preservada, com fibrose perissinusoidal limitada às áreas perivenulares
2	Fibrose periportal focal ou extensa adicional	Arquitetura lobular preservada, com fibrose perissinusoidal e formação de finos septos esparsos, com ou sem expansão fibrosa portal;
3	Fibrose perissinusoidal e portal com focal ou extensa formação de pontes	Arquitetura lobular alterada, com septos unindo estruturas vasculares entre si; esboço de nódulos
4	Cirrose	Arquitetura predominantemente nodular ou cirrose instalada

gênese da DHGNA. Vários estudos<sup>4,20,40</sup> mostram que anomalias mitocondriais estão estreitamente relacionadas à patogênese da DHGNA, levando à hipótese de que a DHGNA seja uma doença mitocondrial. As anomalias mitocondriais associadas com a DHGNA incluem lesões ultraestruturais, depleção de DNA mitocondrial (DNAm<sub>t</sub>), atividade diminuída dos complexos da cadeia respiratória e danos da  $\beta$ -oxidação mitocondrial. Mudanças morfológicas anormais nas mitocôndrias do fígado foram observadas em humanos e nos modelos animais com EHNA<sup>3,4,40,41</sup>. A microscopia eletrônica revela que as mitocôndrias na DHGNA são grandes e escassas (Figura 2A); a matriz é hipodensa e contem inclusões paracristalinas (Figura 2B). Defeitos ultraestruturais nas mitocôndrias de pacientes com DHGNA podem ser indicativos de função mitocondrial defeituosa, levando, por exemplo, à atividade reduzida da cadeia respiratória mitocondrial<sup>42</sup> e síntese defeituosa de ATP<sup>43</sup>. A DHGNA está presente frequentemente nos pacientes com resistência à insulina, obesidade e diabetes tipo 2, algumas condições metabólicas em que há diminuição do consumo de oxigênio e de produção de ATP, redução do DNAm<sub>t</sub> total e da transcrição do fator A do DNAm<sub>t</sub> e redução das proteínas respiratórias nos adipócitos, músculo e fígado<sup>44</sup>.



**Figura 2.** **A)** Mitocôndria de fígado com esteatose microvesicular exibindo megamitocôndrias com inclusões cristalinas (setas). **B)** Mitocôndrias de fígado com esteatose microtubular apresentando tamanho elevado, hipodensidade e cristas pouco evidentes.

A depleção do DNAm<sub>t</sub> nos hepatócitos inibe a função mitocondrial e causa esteatose hepática e outras injúrias hepáticas. Os pacientes com EHNA apresentam expressão diminuída dos polipeptídeos codificados pelo DNAm<sub>t</sub><sup>45</sup> e baixa atividade dos complexos I, II, III, IV e V<sup>42</sup>. A síndrome da deficiência de DNAm<sub>t</sub> (SDDm<sub>t</sub>), provavelmente, é a mais comum entre as desordens na cadeia respiratória da mitocôndria<sup>46</sup>. Pacientes que apresentam a forma hepática da SDDm<sub>t</sub> nos primeiros seis meses de vida mostram progressiva insuficiência hepática e frequente envolvimento neurológico; investigações metabólicas revelam hipoglicemia e elevados níveis de lactato nos fluidos corporais; lesões hepáticas incluem esteatose e fibrose progredindo para cirrose, aumento do número de mitocôndrias pleomórficas e anomalias nas cristas<sup>46,47</sup>. Nessa condição é descrita esteatose microvesicular associada a alterações mitocondriais na matriz, cristas e também aumento do número total de mitocôndrias, denominada alteração oncocítica<sup>2-3</sup>.

Múltiplas enzimas estão envolvidas na  $\beta$ -oxidação mitocondrial e suas deficiências podem levar ao desenvolvimento da esteatose. Camundongos, por exemplo, com disfunção nos genes da Acil-CoA desidrogenase de "cadeia-média" e Acil-CoA desidrogenase de "cadeia-muito-longa" manifestam defeitos na oxidação de ácidos graxos que levam, provavelmente, à esteatose hepática micro e macrovesicular.

Defeitos ultraestruturais em mitocôndrias em pacientes com DHGNA podem ser indicativos de fosforilação oxidativa defeituosa, visto que esses pacientes apresentam reduzida atividade na cadeia respiratória mitocondrial<sup>48</sup> com prejuízo na síntese de adenosina trifosfato após recusa da frutose<sup>43</sup>. Tais disfunções podem levar à produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO). Se a cadeia respiratória é interrompida em certos pontos, os intermediários respiratórios podem transferir elétrons para moléculas de oxigênio, produzindo ânions superóxido e peróxido de hidrogênio<sup>49</sup>. Se a capacidade oxidativa da mitocôndria permanece estagnada, ácidos graxos são acumulados no citosol. Vias alternativas são então

ativadas nos peroxissomos ( $\beta$ -oxidação) e nos microsomos ( $\omega$ -oxidação), resultando na formação adicional de EROs<sup>50</sup>.

## MECANISMOS DA ESTEATOSE HEPÁTICA

Embora os mecanismos responsáveis pela esteatose hepática na EHNA não estejam inteiramente elucidados, o aumento da disponibilidade de ácidos graxos livres no fígado e aumento da síntese hepática de ácidos graxos podem representar papel fundamental nessa disfunção. Além disso, na EHNA foi observada diminuição da secreção hepática de apolipoproteína B (apo B), embora sem relação direta com aumento ou diminuição da secreção hepática de triglicérides<sup>41</sup>.

A disponibilidade aumentada de ácidos graxos no fígado colabora para o desenvolvimento de esteatose em pacientes com diabetes tipo 2. Normalmente, os adipócitos de indivíduos magros e insulino-sensíveis armazenam a gordura após refeições e liberam ácidos graxos durante períodos de jejum. Ao contrário, os adipócitos de indivíduos obesos ou insulino-resistentes mantêm liberação contínua de grandes quantidades de glicerol e ácidos graxos na circulação, o que ocorreria somente no jejum<sup>42</sup>. Como os ácidos graxos são prontamente levados aos hepatócitos, a resistência à insulina aumenta extremamente a quantidade de ácidos graxos disponíveis ao fígado<sup>41</sup>. E não somente os ácidos graxos livres em excesso no plasma são levados ao fígado, mas também passam a ser nele sintetizados mais ativamente. Certamente, os níveis aumentados de insulina e glicose estimulam a síntese do ácido graxo e triacilglicerol com ativação da expressão de enzimas-chaves envolvidas na lipogênese, promovendo a formação e deposição de triacilglicerol no fígado<sup>51</sup>.

A EHNA também se caracteriza pela diminuição da saída de apolipoproteína B do fígado, documentada em alguns pacientes<sup>52</sup>. Evidências recentes sugerem que essa redução possa ser um distúrbio primário na EHNA<sup>52</sup>, sendo causada, ao menos em parte, por diminuição da transcrição e/ou da estabi-

lidade do RNAm. É possível que a hiperinsulinemia tenha influência nesse mecanismo, pois a insulina diminui a síntese e a estabilidade da apolipoproteína B<sup>48</sup>. A síntese e/ou a secreção hepática diminuídas de apo B na EHNA podem estar associadas a concentrações reduzidas ou aumentadas de apo B e a níveis elevados de triglicérides no plasma<sup>52</sup>.

## DISCUSSÃO

O exame histológico do fígado com defeitos na cadeia respiratória pode mostrar quatro principais alterações: esteatose, fibrose, colestase e necrose. Esteatose está presente em quase todos os casos de doença hepática mitocondrial, sendo a forma microvesicular a alteração típica e muitas vezes acompanhada pela esteatose macrovesicular<sup>53</sup>.

Nessa condição, o fato de as mitocôndrias, em hepatócitos com alta proliferação delas, apresentarem tamanho e formato semelhantes com frequente ausência de cristas visíveis pode suportar a hipótese de hiperplasia compensatória dessas organelas<sup>2</sup>. Um aspecto importante, tendo em vista a teoria dos "dois golpes", proposto por Day & James<sup>19</sup> para explicar a patogênese da DHGNA, é o fato de a esteatose isoladamente não evoluir para esteato-hepatite. No entanto, seria um fator que sensibilizaria o fígado para os efeitos mais danosos de um "segundo golpe". O acúmulo de gordura hepática em si não é prejudicial, mas, sim, os insultos secundários - por exemplo, EROs e citocinas inflamatórias - impostos ao fígado esteatótico, com progressão para esteato-hepatite. Recentemente, crescente número de trabalhos na literatura científica sugere fortemente que a composição dos ácidos graxos presentes no fígado interfira na gravidade da lesão hepática, com piora da progressão relacionada aos ácidos graxos saturados<sup>31</sup>.

De acordo com Oleszczuk *et al.*<sup>21</sup> e Sherlock<sup>22</sup>, a esteatose macrovesicular seria lesão de menor gravidade quando comparada à esteatose microvesicular. Esses autores sugerem que o fígado gorduroso, à custa de esteatose macrovesicular, seja mais resistente a eventuais outras agressões. Ao contrário,



a esteatose microvesicular, que representa condição mais grave, com risco de morte por insuficiência hepática<sup>54</sup>, parece tornar o fígado mais sensível para mecanismos deletérios secundários<sup>19</sup>. Fígados que desenvolvem moderada e grave esteatose microvesicular após o transplante mostram aumento significativo na perda precoce de função<sup>55</sup>, muito provavelmente devido à diminuição do número de hepatócitos em regeneração. A capacidade regenerativa reduzida na esteatose microvesicular contribui para o pior prognóstico nesse tipo de alteração hepática. Foi verificado que, em paciente infantil portador de esteatose hepática, o predomínio da forma microvesicular se associa ao aumento das dimensões mitocondriais<sup>56</sup>, sugerindo que a esteatose microvesicular, além de representar o “primeiro golpe”, também apresenta os efeitos deletérios do “segundo golpe”.

Baseada, principalmente, nas alterações morfológicas e volumétricas presentes nas mitocôndrias<sup>2,3,46,47,56</sup>, essa forma de esteatose - que não deve ser chamada de esteatose “pura” - pode corresponder à lesão inicial do amplo espectro presente na DHGNA, com pior evolução clínica da doença a ela associada. É necessário assim um diagnóstico precoce e maior atenção para os casos em que houver esteatose microvesicular, uma vez que a evolução pode ocorrer de maneira desfavorável.

#### C O L A B O R A D O R E S

G.H.SILVA realizou o levantamento bibliográfico, organizou as informações para produção do texto, quadros do artigo e captura das imagens de microscopia eletrônica. C.A.F. ESCANHOELA realizou a revisão do texto, a complementação das informações, a correção das tabelas e captura das imagens de microscopia de luz.

#### R E F E R Ê N C I A S

1. Sokol RJ, Treem WR. Mitochondria and childhood liver diseases. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999; 28(1): 4-19.
2. Mandel H, Hartman C, Berkowitz D, Elpeleg ON, Manov I, Lancu TC. The hepatic mitochondrial DNA depletion syndrome: ultrastructural changes in liver biopsies. *Hepatology.* 2001; 34(4 pt1):776-84.
3. Bioulac-Sage P, Parrot-Roulaud F, Mazat JP, Lamireau T, Coquet M, Sandler B, *et al.* Fatal neonatal liver failure and mitochondrial cytopathy (oxidative phosphorylation deficiency): a light and electron microscopic study of the liver. *Hepatology.* 1993; 18(4):839-46.
4. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology.* 2001; 120(5):1183-92.
5. Browning DJ, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest.* 2004; 114(2):147-52.
6. Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Ma JX, Lu LG, Shi SL, *et al.* Prevalence of fatty liver disease and risk factors in the population of South China. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(47):6419-24.
7. Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future. *Hepatology.* 2007; 46(2):582-9.
8. Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *J Clin Gastroenterol.* 2006; 40(1): S5-S10.
9. Neuschwander-Tetri B, Caldwell S. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology.* 2003; 37(5):1202-19.
10. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology.* 2005; 42(1):44-52.
11. Amarapurkar DN, Hashimoto E, Lesmana LA, Sollano JD, Chen PJ, Goh KL. How common is non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region and are there local differences? *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22(6):788-93.
12. Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, *et al.* Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 21(1 pt 1):138-43.
13. Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, Sodde M, Fratti N, De Martin C, *et al.* Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos Study. *Hepatology.* 1994; 20(6):1442-9.
14. Nomura H, Kashiwagi S, Hayashi J, Kajiyama W, Tani S, Goto M. Prevalence of fatty liver in a general population of Okinawa, Japan. *JPN J Med.* 1998; 27(2): 142-9.

15. Marchesini G, Marzocchi R, Agostini F, Bugianesi E. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol*. 2005; 16(4):421-7.
16. Zafrani ES. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging pathological spectrum. *Virchows Arch*. 2004; 444(1):3-12.
17. Marion AW, Baker AJ, Dhawan A. Fat liver disease in children. *Arch Dis Child*. 2004; 89(7):648-52.
18. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002; 123(5):1705-25.
19. Day CP, James OF. Hepatic steatosis: innocent bystander or guilty party? *Hepatology*. 1998; 27(6):1463-6.
20. Fromenty B, Pessayre D. Inhibition of mitochondrial beta-oxidation as a mechanism of hepatotoxicity. *Pharmacol Ther*. 1995; 67(1):101-54.
21. Oleszczuk A, Spannauer M, Tannapfel A, Blüher M, Hengstler J, Pietsch UC, *et al*. Regenerative capacity differs between micro- and macrovesicular hepatic steatosis. *Exp Toxicol Pathol*. 2007; 59(3-4):205-13.
22. Sherlock S. Alcoholic liver disease. *Lancet*. 1995; 345:227-9.
23. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology*. 1994; 107(4):1103-9.
24. Reid, AE. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2001; 121(3):710-23.
25. Hui JM, Kench JG, Chitturi S, Sud A, Farrell GC, Byth K, *et al*. Long-term outcomes of cirrhosis in nonalcoholic steatohepatitis compared with hepatitis C. *Hepatology*. 2003; 38(2):420-7.
26. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*. 1998; 114(4):842-5.
27. Ito K, Kiyosawa N, Kumagai K, Manabe S, Matsunuma N, Yamoto T. Molecular mechanism investigation of cycloheximide-induced hepatocyte apoptosis in rat livers by morphological and microarray analysis. *Toxicology*. 2006; 219(1-3):175-86.
28. Festi D, Colecchia A, Sacco T, Bondi M, Roda E, Marchesini G. Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance. *Obes Rev*. 2004; 5(1):27-42.
29. Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, Clemens M, Diehl AM. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94(6):2557-62.
30. Abdelmalek MF, Diehl A. Mechanisms underlying nonalcoholic steatohepatitis. *Drug Discov Today Dis Mech*. 2006; 3(4):479-88.
31. Gentile CL, Pagliassotti MJ. The role of fatty acids in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem*. 2008; 19(9):567-76.
32. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatites: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94(9):2467-74.
33. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 1999; 116(6):1413-9.
34. Freitas LAR, Cotrim HP. Esteato-hepatite não alcoólica (NASH). Atlas histológico. Salvador: Nova Agência e Lab. Zambon; 2006.
35. Treem, RT; Sokol, RJ. Disorders of the mitochondria. *Semin Liver Disease*. 1998; 18(3):237-53.
36. McKenzie R, Fried MW, Sallie R, Conjeevaram H, Di Bisceglie AM, Park Y, *et al*. Hepatic failure and lactic acidosis due to fialuridine (FIAU), an investigational nucleoside analogue for chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 1995; 333(17):1099-105.
37. Sokol RJ, Treem WR. Mitochondria and childhood liver diseases. *J Pediatr Gastroenterol Nut*. 1999; 28(1):4-19.
38. De Vivo DC. Reye syndrome: a metabolic response to an acute mitochondrial insult? *Neurology*. 1978; 28:105-8.
39. Mahler H, Pasi A, Kramer JM, Schulte P, Scoging AC, Bar W, *et al*. Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. *N Engl J Med*. 1997; 336(16):1142-8.
40. Ibdah JA, Perlegas P, Zhao Y, Angdisen J, Borgerink H, Shadoan MK, *et al*. Mice heterozygous for a defect in mitochondrial trifunctional protein develop hepatic steatosis and insulin resistance. *Gastroenterology*. 2005; 128(5):1381-90.
41. Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion*. 2006; 6(1):1-28.
42. Perez-Carreras M, Del Hoyo P, Martin MA, Rubio JC, Martin A, Castellano G, *et al*. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2003; 38(4):999-1007.
43. Cortez-Pinto H, Zhi Lin H, Qi Yang S, Odwin-da-Costa S, Diehl AM. Lipids up-regulate uncoupling protein 2 expression in rat hepatocytes. *Gastroenterology*. 1999; 116(5):1184-93.
44. Valerio A, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tedesco L, Pisconti A, *et al*. TNF-alpha downregulates eNOS expression and mitochondrial biogenesis in fat and

- muscle of obese rodents. *J Clin Invest.* 2006; 116(10): 2791-8.
45. Santamaria E, Avila MA, Latasa MU, Rubio A, Martin-Duce A, Lu SC, *et al.* Functional proteomics of nonalcoholic steatohepatitis: mitochondrial proteins as targets of S-adenosylmethionine. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100(6):3065-70.
46. Moraes CT, Shanske S, Tritschler HJ, Aprille JR, Andreetta F, Bonilla E, *et al.* MtDNA depletion with variable tissue expression: a novel genetic abnormality in mitochondrial diseases. *Am J Hum Genet.* 1991; 48(3):492-501.
47. Morris AA, Taanman JW, Blake J, Cooper JM, Lake BD, Malone M, *et al.* Liver failure associated with mitochondrial DNA depletion. *J Hepatol.* 1998; 28(4): 556-63.
48. Morris AA. Mitochondrial respiratory chain disorders and the liver. *Liver.* 1999; 19:357-68.
49. Hensley K, Kotake Y, Sang H, Pye QN, Wallis GL, Kolker LM, *et al.* Dietary choline restriction causes complex I dysfunction and increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation in liver mitochondria. *Carcinogenesis.* 2000; 21(5):983-9.
50. Berson A, De Beco V, Letteron P, Robin MA, Moreau C, El Kahwaji J, *et al.* Steatohepatitis-inducing drugs cause mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation in rat hepatocytes. *Gastroenterology.* 1998; 114(4): 764-74.
51. Matsusue K, Haluzik M, Lambert G, Yim SH, Gavrilova O, Ward JM, *et al.* Liver specific disruption of PPAR- $\gamma$  in leptin-deficient mice improves fatty liver but aggravates diabetic phenotypes. *J Clin Invest.* 2003; 111(5):737-47.
52. Taghibiglou C, Carpentier A, Van Iderstine SC, Chen B, Rudy D, Aiton A, *et al.* Mechanisms of hepatic very low density lipoprotein overproduction in insulin resistance. Evidence for enhanced lipoprotein assembly, reduced intracellular apoB degradation, and increased microsomal triglyceride transfer protein in a fructose-fed hamster model. *J Biol Chem.* 2000; 275(12):8416-25.
53. Oleszczuk A, Spannauer M, Tannapfel A, Blüher M, Hengstler J, Pietsch UC, *et al.* Regenerative capacity differs between micro- and macrovesicular hepatic steatosis. *Exp Toxicol Pathol.* 2007; 59(3-4):205-13.
54. Ellis AJ, Wendon JA, Portmann B, Williams R. Acute liver damage and ecstasy ingestion. *Gut.* 1996; 38(3): 454-8.
55. Fishbein M, Mogren J, Cox S, Jennings R. Undetected hepatomegaly in obese children by primary care physicians: a pitfall in the diagnosis of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Pediatr.* 2005; 44(2):135-41.
56. Silva GH, Coelho KIR, Coelho CAR, Escanhoela CAF. Mitochondrial alterations in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Pediatric case description of 3 (three) submitted sequential biopsies. *J Gastroenterol Liver Dis.* 2009; 18(2):21.

Recebido em: 5/8/2009

Versão final reapresentada em: 10/12/2009

Aprovado em: 29/1/2010

