



**UNIVERSIDADE
DO BRASIL**
UFRJ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA

**RELAÇÃO ENTRE RETINOL, ÁCIDO RETINOICO E
PARÂMETROS CLÍNICOS EM PACIENTES COM CIRROSE CHILD A.**

Fernanda Campinho Vaz Sanchez

RIO DE JANEIRO

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA

RELAÇÃO ENTRE RETINOL E ÁCIDO RETINOICO COM
PARÂMETROS CLÍNICOS EM PACIENTES COM CIRROSE CHILD A.

Fernanda Campinho Vaz Sanchez

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Clínica (PPGNC), do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Nutrição Clínica.

Orientador(es): Prof^ª Dr^ª Wilza Arantes Ferreira Peres

Prof^ª Dr^ª Márcia Soares da Mota e Silva Lopes

RIO DE JANEIRO

Março, 2019

Sanchez, Fernanda Campinho Vaz.

Relação entre retinol, ácido retinoico e parâmetros clínicos em pacientes com cirrose Child A. / Fernanda Campinho Vaz Sanchez. – Rio de Janeiro: UFRJ / Centro de Ciências da Saúde, Instituto de Nutrição Josué Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição Clínica (PPGNC), 2019.

85 f.: il.; 31 cm.

Orientadoras: Wilza Arantes Ferreira Peres e Márcia Soares da Mota e Silva Lopes.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro / Instituto de Nutrição Josué Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGNC), 2019.

Referências: f.70 -80.

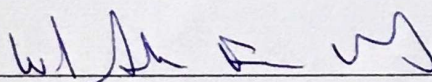
1.Retinoides. 2.Vitamina A. 3.Cirrose Hepática -fisiopatologia. 4. Estado Nutricional. 5. Nutrição Clínica - tese. I. Peres, Wilza Arantes Ferreira. II. Silva, Márcia Soares da Mota e. III.Vaz, Fernanda Campinho. IV. Universidade Federal do Rio de Janeiro/ Instituto de Nutrição Josué Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição Clínica (PPGNC). V. Título.

**RELAÇÃO ENTRE RETINOL, ÁCIDO RETINOICO E
PARÂMETROS CLÍNICOS EM PACIENTES COM CIRROSE CHILD A**

Fernanda Campinho Vaz Sanchez

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA DO INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM NUTRIÇÃO CLÍNICA.

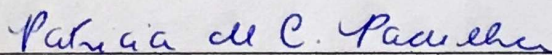
Examinada por:



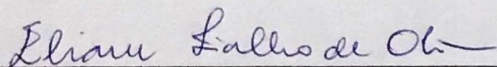
Prof.^a Dr.^a Wilza Arantes Ferreira Peres (orientadora), Doutora em Clínica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)



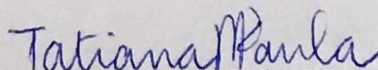
Prof. Dr.^a Márcia Soares da Mota e Silva Lopes (coorientadora), Doutora em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)



Prof.^a Dr.^a Patrícia de Carvalho Padilha (revisora), Doutora em Ciências Nutricionais, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)



Prof.^a Dr.^a Eliane Fialho de Oliveira, Doutora em Bioquímica Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)



Prof.^a Dr.^a Tatiana Pereira de Paula, Doutora em Ciências Médicas, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCCF)

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

MARÇO/2019

DEDICATÓRIA

Às minhas lindas filhas, Julia e Gabriela, que me ensinam diariamente a ser uma pessoa melhor. Amo vocês, filhotas!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, causa primária de todas as coisas, que me ampara, cuida de mim e me possibilita sempre ir além das minhas capacidades! Obrigada, Deus, por ser justo e bom o tempo todo e estar sempre presente na minha vida para me guiar na direção certa.

Aos meus pais, Delfim (*in memoriam*) e Elisabete, por me ensinarem o valor do estudo, me incentivarem a ir além e sempre seguir o caminho do bem! Pai, tenho certeza que onde você estiver você estará orgulhoso da sua filha e, possivelmente, falando para alguém algo do tipo “É minha filha!”. Mãe, obrigada pelo dom da vida, pelo seu exemplo de mulher batalhadora, que não tem medo de trabalho e que se importa com o outro!

Ao meu amor, Ricardo, por sempre estar ao meu lado quando preciso, por atender aos meus pedidos de acalento, força e o clássico “você vai conseguir” seja com a sua palavra ou em cada abraço que me deu até aqui. Muito obrigada por você estar sempre ao meu lado, caminhando junto nas minhas empreitadas profissionais (do mais clássico ao mais mirabolante) e por permitir viver tudo isso ao cuidar das meninas com tanto carinho e sendo o pai maravilhoso que eu tinha certeza que seria! Sem você, nada disso seria possível!

As minhas filhas, Julia e Gabriela ou Juleca e Gabizoca, pelos sorrisos que me dão diariamente que, certamente, me impulsionam para continuar a minha caminhada. Ju, a mamãe vai ser mestra e vai continuar trabalhando (e muito!), mas também estará **sempre** com você e por você! Muito obrigada por entender a minha ausência quando a mamãe precisava ficar no quarto, quietinha, e você queria brincar! Gabi, meu bebê, você deu sinal de que queria vir ao mundo quando eu escrevia sobre as células estreladas e continuou comigo na construção deste trabalho! Sempre me lembrarei de você no berço, bem atrás de mim... e da sua mãozinha segurando a minha quando eu buscava um pouco mais de inspiração para continuar!

As minhas irmãs por serem exemplos de mulheres fortes e determinadas! Muito desta nossa característica se deve as mulheres fortes e inspiradoras da nossa família, nosso DNA tem esta marca e é excelente poder compartilhar isso com vocês! Aos meus sobrinhos e afilhados, Bê e Manu, crianças lindas que amo tanto!

As minhas queridas orientadoras Wilza e Márcia! Wilza, muito obrigada por ser esta pessoa e profissional incrível. Sempre me lembrarei dos áudios trocados pelo WhatsApp, especialmente nas suas férias, quando você fazia seu lindo papel de orientadora e, principalmente, me mostrava o real significado de ser professora com a sua generosidade e empatia! Márcia, querida, você é muito especial! Sempre firme e com as palavras doces... muito obrigada pela confiança por me co-orientar e lembrar de mim em uma das coisas eu amo fazer, ser professora!

Aos meus amigos e familiares por compreenderem as minhas ausências, mas especialmente, pelo incentivo e apoio. Me considero uma pessoa de muita sorte pelos amigos maravilhosos que a vida me deu e agradeço constantemente por isso! Agradeço, especialmente, as mulheres incríveis que a nutrição me deu para me inspirar, desde as minhas orientadoras até minhas amigas de faculdade, passando por tantas outras que nem saberia listar neste momento! Aproveitar para agradecer a minha banca que são mulheres inspiradoras e que eu me inspiro pelas suas dedicações a docência e ao paciente!

E, claro, eu preciso agradecer a turma sensacional do Mestrado Profissional em Nutrição Clínica/2016! Meninas, o meu agradecimento a vocês por cada quinta-feira juntas! Vocês fazem parte das mulheres incríveis que a UFRJ me deu! Nossa turma pode até ser conhecida pela fertilidade, mas vai deixar a sua marca pela dedicação a este curso e pelo respeito mútuo! Ju, obrigada pelas caronas, pelos papos, pelas trocas... você é maravilhosa como amiga, mãe e profissional! Pity, obrigada por me mostrar a fortaleza que existe em você! Fê, que pessoa maravilhosa e dedicada! Dani, você é generosa e dedicada ao outro, como poucas pessoas que conheço! Gisa, você é fantástica e quero você mais presente na minha vida! Raquel, você tem uma estrela linda... põe ela para brilhar mesmo! Lu, tímida e com uma alma grande! Amanda, você é inesquecível e me tira sorrisos sempre quando ouvir sobre BLW. Luana, que mulher determinada! Muito obrigada, meninas, por me inspirarem com as suas personalidades e comportamento! Que honra ter feito parte desta turma!

Resumo da dissertação apresentada ao PPGNC/UFRJ como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de mestre em Nutrição Clínica.

RELAÇÃO ENTRE RETINOL, ÁCIDO RETINOICO E PARÂMETROS CLÍNICOS EM PACIENTES COM CIRROSE CHILD A.

Fernanda Campinho Vaz Sanchez

Março/2019

Orientadores: Wilza Arantes Ferreira Peres

Márcia Soares da Mota e Silva Lopes

RESUMO

A vitamina A é um termo genérico que engloba diversos compostos, sendo conhecidos como retinoides. A alteração do metabolismo do retinoide tem sido associada à progressão de doenças hepáticas, assim como o retinol tem sido relacionado à piora de hepatopatias e o ácido retinoico (AR) pode contribuir para o mesmo desfecho. O estudo objetivou avaliar a associação de mortalidade e marcadores de lesão e função hepática com retinol, AR e a razão retinol/ácido retinoico na cirrose hepática. Trata-se de estudo longitudinal observacional com pacientes atendidos entre outubro de 2007 a março de 2010. Foram elegíveis pacientes com cirrose hepática Child A com diversas etiologias. Foram avaliadas as concentrações séricas de retinol e AR após jejum noturno. A razão retinol/ácido retinoico é o quociente dos valores. Para avaliação do estado nutricional, utilizou-se a circunferência muscular do braço (CMB) e dobra cutânea tricípital (DCT). A mortalidade foi avaliada após 10 anos. Para a análise inferencial utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman, teste de Mann-Whitney e teste de Shapiro-Wilk. O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5%. A amostra foi composta de 57 pacientes. As medianas encontradas foram: idade 57,5 (51,3-65,8), retinol 70,15 (57,80-86,88) ng/mL, AR 2,05 (1,54-2,56) ng/mL e razão retinol/ácido retinoico 36,90 (29,25-46,35).

Encontrou-se correlação inversa e significativa entre o AR e o retinol ($p = 0,038$), entre o AR e a transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e entre a razão retinol/ácido retinoico e a transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) ($p=0,011$). O retinol não apresentou correlação significativa com os parâmetros do estudo. Como conclusão, o AR e a razão retinol/ácido retinoico se relacionaram com marcadores de função e lesão hepática. A mortalidade não se correlacionou com a concentração sérica de retinol, AR e razão retinol/ácido retinoico nos pacientes com cirrose Child A.

Palavras-chave: vitamina A, retinol; ácido retinoico; cirrose; doença hepática crônica; lesão hepática; doença de fígado.

RELATIONSHIP BETWEEN RETINOL, RETINOIC ACID AND
CLINICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CIRROSE CHILD A.

Fernanda Campinho Vaz Sanchez

March/2019

Advisors: Wilza Arantes Ferreira Peres

Márcia Soares da Mota e Silva Lopes

ABSTRACT

Vitamin A is a generic term that includes several compounds, known as retinoids. Alteration of retinoid metabolism has been associated with progression of liver diseases, as retinol has been linked to worsening liver disease and retinoic acid may contribute to the same outcome. The study aimed to evaluate the association of mortality and markers of liver function damage with retinol, retinoic acid (RA) and the retinol/retinoic acid ratio in liver cirrhosis. This is a longitudinal observational study with patients seen between October 2007 and March 2010. Patients with Child A hepatic cirrhosis with different etiologies were eligible. Serum concentrations of retinol, RA after nocturnal fasting were evaluated. The retinol retinoic acid ratio is the quotient of the values. To evaluate the nutritional status, upper arm muscle circumference and tricipital skin fold (TSF) were used. Mortality was assessed after 10 years. The Spearman correlation coefficient, the Mann-Whitney test and the Shapiro-Wilk test were used for the inferential analysis. The significance criteria level adopted was 5%. The sample consisted of 57 patients, median age 57,5 (51,3-65,8). The medians found in the sample were: retinol 70,15 (57,80-86,88) ng / mL, RA 2,05 (1,54-2,56) ng / mL and retinol / retinoic acid ratio 36,90 (29,25-46,35). There was an inverse and significative correlation between RA and retinol ($p = 0,038$), between RA and AST ($p = 0,025$) and between the retinol/retinoic acid ratio and ALT ($p = 0,011$), besides a strong tendency with indirect bilirubin. Retinol showed no significant correlation with the study parameters. In conclusion, RA and retinol/retinoic acid ratio were related to markers of liver function and injury. Mortality did not correlate with serum retinol, RA and retinol/retinoic acid ratio in patients with Child A cirrhosis.

Keywords: vitamin A, retinol; retinoic acid; cirrhosis; chronic liver disease; liver injury; liver disease.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1. Etiologia e prevalência das doenças hepáticas crônicas	19
2.2. Fisiopatologia da cirrose hepática	22
2.2.1. Lesão hepática e cascata fibrogênica	25
2.2.2. Resposta imunoinflamatória na modulação do processo fibrótico	26
2.2.3. Células estreladas hepáticas no processo de fibrose e cirrose hepática	29
2.3. Diagnóstico e Classificação da Gravidade da Cirrose Hepática	31
2.4. Vitamina A	33
2.4.1. Ácido retinoico	34
2.4.2. Vitamina A e doenças hepáticas crônicas	36
3. JUSTIFICATIVA	40
4. OBJETIVOS	41
6.1. Objetivo geral	41
4.2. Objetivos específicos	41
5. CASUÍSTICA E MÉTODOS	42
5.1. Desenho do estudo, população e amostra	42
5.2. Critérios de elegibilidade	42
5.3. Classificação da gravidade da cirrose hepática	42
5.4. Coleta de sangue	42
5.5. Quantificação das concentrações séricas dos retinoides	43
5.6. Classificação dos valores séricos de retinol	44
5.7. Parâmetros laboratoriais para avaliação hepática	44
5.8. Avaliação antropométrica	45
5.9. Avaliação da ocorrência de óbito	45

5.10. Análise de dados	46
5.11. Aspectos éticos	47
6. RESULTADOS	48
6.1. Manuscrito: Relação entre retinol e ácido retinoico com parâmetros clínicos em pacientes com cirrose Child A	49
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
8. REFERÊNCIAS	70
9. APÊNDICES	81
9.1. Apêndice 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	81
9.2. Apêndice 2: Instrumento de coleta de dados 1	82
9.3. Apêndice 3: Instrumento de coleta de dados 2	84
10. ANEXOS	85
10.1. Anexo 1: Aprovação do Projeto de Pesquisa no Comitê de Ética	85

LISTA DE FIGURAS, QUADROS E TABELAS

	Página
DISSERTAÇÃO	
Figura 1. Retinol e seus metabólitos ou análogos da vitamina A.	34
Quadro 1. Classificação da gravidade da doença hepática de acordo com o critério de Child & Pugh.	32
Quadro 2. Estágios de encefalopatia hepática.	32
Quadro 3. Parâmetros de normalidade dos exames bioquímicos realizados no HUCFF	44
MANUSCRITO	
Tabela 1. Variáveis descritivas na amostra total de pacientes com cirrose Child A.	56
Tabela 2. Valores de retinol sérico basal, ácido retinoico e razão retinol/ácido retinoico, medianas e intervalo interquartil, segundo idade e sexo de pacientes com cirrose Child A.	58
Tabela 3. Descritiva e razão de risco das variáveis clínicas e laboratoriais para desfecho óbito em pacientes com cirrose Child A.	58
Tabela 4. Correlação entre as concentrações séricas de retinole as variáveis laboratoriais, na amostra total de pacientes com cirrose Child A.	60
Tabela 5. Correlação entre as concentrações séricas de ácido retinoico e as variáveis laboratoriais, na amostra total de pacientes com cirrose Child A.	61
Tabela 6. Correlação entre a razão retinol/ácido retinoico e as variáveis laboratoriais, na amostra total de pacientes com cirrose Child A.	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AATR	Ácido all-trans-retinoico
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
AR	Ácido retinoico
BD	Bilirrubina direta
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CEH	Células estreladas hepáticas
CES	Células endoteliais sinusoidais
CHC	Carcinoma hepatocelular
CYP450	Citocromo P450
DHC	Doença hepática crônica
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DVA	Deficiência de vitamina A
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EHNA	Esteato-hepatite não alcoólica
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FA	Fosfatase alcalina
GGT	Gama GT
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HCF	Fator de crescimento de hepatócitos
IL-6	Interleucina - 6
INR	Razão normalizada internacional
KGF	Fator de crescimento de queratinócitos
LPS	Lipopolissacarídeos
MAIT	Células T invariáveis associadas à mucosa
MEC	Matriz Extracelular

MMP9	Metaloproteinase 9
MMPs-2	Metaloproteinases de Matriz 2
NK	Células Natural Killer
NKT	Células Natural Killer T
NLRs	Receptores do tipo NOD
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PRRs	Receptores de reconhecimento de padrões
RALDH	Retinaldeído desidrogenases ou retinal desidrogenase
RARs	Receptores do ácido retinoide
RDHs	Retinol desidrogenases
RI	Resistência à insulina
RIPs	Proteínas que interagem com receptores
RR	Risco relativo
RXRs	Receptores retinoide X
SM	Síndrome metabólica
TGF	Fator transformador de crescimento
TGO	Transaminase glutâmico oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
Th17	Células T auxiliares 17 ou Helper 17
TIMPs	Inibidores teciduais de metaloproteinases
TLRs	Receptores semelhantes a toll
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
Trx	Tiorredoxina
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
VHB	Vírus da hepatite B
VHC	Vírus da hepatite C
VHD	Vírus da hepatite D
WGO	World Gastroenterology Organization
5-LOX	5-Lipoxigenase

APRESENTAÇÃO

Nutricionista graduada em Nutrição pela Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO) - 2004; Pós-graduação em nutrição clínica pelo Curso de Especialização em Nutrição Clínica (CENC) na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - 2007. Especialista em nutrição clínica pela Associação Brasileira de Nutrição (ASBRAN) - 2008. Mestrado profissional em Nutrição Clínica pelo Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC) na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - 2019. Experiência profissional em nutrição clínica, atuando em consultório e clínicas no Rio de Janeiro/RJ. Docente de cursos de pós-graduação no Brasil em diversas instituições de ensino desde 2007. Atualmente, docente no curso de pós-graduação “Prescrição de Fitoterápicos e Suplementação Nutricional na Nutrição Clínica e Esportiva” e “Nutrição Clínica Ortomolecular” na Universidade Estácio de Sá em todo território nacional, curso de pós-graduação “Nutrição Clínica Funcional” na Faculdade Arthur Sá Earp Neto (FASE) na cidade de Petrópolis e do “Curso de Especialização em Nutrição Clínica – CENC” da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Como docente, leciona disciplinas relacionadas a prescrição de suplementos nutricionais focado para a prática clínica. Conselheira efetiva do Conselho Regional do Nutricionistas da 4º Região (CRN) na gestão 2007-2010, sendo coordenadora da Câmara Técnica de Nutrição Clínica e Comissão de Formação Profissional. Proprietária da NutClinic, empresa de treinamentos e cursos de extensão em nutrição, especialmente com foco em temas relacionadas a nutrição clínica. O presente estudo teve origem em um trabalho realizado no período de 2007 a 2010, que foi objeto de uma tese de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), que objetivava avaliar a reserva hepática de vitamina A e a concentração da proteína ligadora de retinol (RBP) em pacientes com doença hepática crônica (DHC). A metodologia de quantificação simultânea do retinol e do ácido retinoico foi desenvolvida na dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 2010. No entanto, os dados publicados nestes dois estudos não exploraram os resultados do ácido retinoico (AR). Desta forma, este trabalho busca explorar a relação do ácido retinoico e a razão precursor/produto (razão retinol/AR) com os parâmetros de lesão e função hepática e a ocorrência de óbito. Cabe destacar o ineditismo do estudo, uma vez que na literatura científica ainda não existe estudos publicados que aborde a relação do AR com a DHC, apenas em pacientes com DHGNA.

1. INTRODUÇÃO

O fígado é um órgão ímpar por suas funções essenciais, capacidade de regeneração e, até mesmo, por seu tamanho, representando cerca de 2% a 3% do peso corporal médio. É formado pelas células parenquimais (hepatócitos) e quatro tipos de células não parenquimais: células endoteliais sinusoidais (CES), células de Kupffer, células estreladas hepáticas (CEH) e células pit ou *natural killer* (NK) associadas ao fígado (BECKWITT et al., 2018).

Os hepatócitos são responsáveis por várias funções do fígado, especialmente, a sua atividade metabólica, incluído a capacidade de biotransformação com a ação da família do citocromo P450 (CYP450) (BECKWITT et al., 2018). As células não parenquimatosas têm uma importante função na arquitetura tecidual e nas respostas do tecido a estímulos tóxicos e/ou metabólicos. Estas células também auxiliam na atuação dos hepatócitos e, dependendo do tipo de célula, podem responder de maneira diferente a lesão hepática (DELEVE, 2013; THOMAS et al., 2005). As células de Kupffer produzem citocinas e espécies reativas de oxigênio (ERO) como respostas a lesões no fígado, enquanto as CEH aumentam a atividade da CYP450 nos hepatócitos e expressam fenótipos específicos para remodelação de matriz extracelular (MEC) (THOMAS et al., 2005).

O órgão possui uma capacidade única em se regenerar após injúrias e danos, mesmo após lesões expressivas. Para que o processo de regeneração ocorra várias substâncias são recrutadas como: o fator de necrose tumoral α (TNF- α), a interleucina-6 (IL-6), o fator de crescimento de hepatócitos (HGF), o fator de crescimento epidérmico (EGF) e o fator de crescimento transformador α (TGF- α) (KWON; LEE; CHOI, 2015). Esta capacidade de regeneração e restabelecimento da estrutura hepática acontece em situações de danos hepáticos agudos. Nas lesões crônicas, as células hepáticas sofrem constantes injúrias e uma sequência de acontecimentos que possibilitam a deterioração progressiva da estrutura e função do fígado (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

A doença hepática crônica (DHC) ocorre por destruição progressiva e ativação de diversos eventos envolvidos com a necrose, regeneração celular e fibrose. A cirrose é a forma avançada da DHC e a sua característica principal o processo fibrótico. Diversas condições clínicas podem colaborar para a fibrose hepática como intoxicação por drogas, álcool e outras toxinas, hepatites virais, as doenças hepáticas alcoólicas e não alcoólicas (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

A MEC tem um papel essencial nas doenças fibróticas e o seu acúmulo é um aspecto importante nas doenças fibróticas. A MEC é composta por uma rede de colágenos e glicosaminoglicanos, incluindo vários colágenos, fibronectina, lamininas e trombospondina, entre outras substâncias (ZHANG; YU; MO, 2011). O acúmulo em excesso da MEC contribui para a fibrose, enquanto ter valores reduzidos do material pode levar a dano de células e tecidos (ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

Além da ação da MEC no processo da fibrose, outros aspectos vêm sendo estudados como o papel do estresse oxidativo (EO), da resposta imunoinflamatória e o papel das CEH na modulação do processo fibrótico. Alguns aspectos associados às doenças hepáticas merecem destaque como a lesão hepática iniciadora da cascata fibrogênica, as CEH, produtoras de MEC e a resposta imunoinflamatória na modulação do processo fibrótico (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

O fígado é o órgão chave no metabolismo e biotransformação de diversos nutrientes. Um destes nutrientes é a vitamina A e os compostos relacionados a este. A vitamina A é um termo genérico que abrange diversos compostos de estrutura química e atividades biológicas relacionadas ao retinol que incluem o retinol, retinal, ácido retinoico (AR) e são conhecidos como retinoides (HUANG et al., 2018; TANUMIHARDJO et al., 2016). Os retinoides têm ações importantes em diversos processos biológicos e o fígado é um órgão chave no metabolismo, assim como na biotransformação (ASHLA et al., 2010).

O AR é um metabólito da vitamina A, com funções importantes no organismo. O fígado é o órgão central no metabolismo do AR. No órgão é realizada a síntese, catabolismo e excreção do metabólito. A família do citocromo P450 (CYP) tem papel essencial na biotransformação deste metabólito, especialmente as enzimas CYP26, CYP26A1, CYP26B1 e CYP26C1. (LAMPEN; MEYER; NAU, 2001; PETKOVICH, 2001).

A alteração no metabolismo dos retinoides tem sido associado à progressão de doenças hepáticas (SHIRAKAMI et al., 2012). Diversos estudos confirmam a relação da concentração sérica de retinol e a progressão da DHC, desta forma, a análise da concentração sérica de retinol é considerada padrão ouro no monitoramento da progressão da DHC, bem como da deficiência de vitamina A (DVA) (BOTELLA-CARRETERO et al., 2010; CHAVES et al., 2014; CLEMENTE et al., 2002; DE PAULA; RAMALHO; BRAULIO, 2010; NEWSOME et al., 2000; SAEED et al., 2017). A atuação do AR na DHC tem sido explorada pela literatura

científica e, de acordo com a publicação encontrada, a redução nas concentrações de AR tem sido associada a lesão e progressão de patologias como a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) e esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) (LIU et al., 2015).

Considerando os estudos anteriores que observaram a relação inversa entre o retinol e a progressão da doença hepática, a importância de compreender o papel do AR na fisiopatologia das doenças de fígado fica ainda mais evidente. Desta forma, avaliar o retinol, o AR e a razão retinol/ácido retinoico é uma possibilidade de entender a relação destes compostos com a progressão da DHC e, especialmente, com a cirrose hepática. É importante ressaltar que, segundo o nosso conhecimento, a associação do AR e a razão retinol/ácido retinoico ainda não foram descritas anteriormente.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Etiologia e prevalência das doenças hepáticas crônicas

As DHC estão se tornando um dos mais sérios problemas de saúde pública e possuem diversas etiologias relacionadas. Estas doenças, geralmente, ocorrem em resposta à injúria hepatocelular crônicas por várias causas. As causas principais são: consumo abusivo de álcool, infecções crônicas como as causadas pelo vírus da hepatite C (VHC), dano ao ducto biliar ou DHGNA (CAMPO; GALLEGO; GRANDE, 2018; YOUNOSSI et al., 2017).

As doenças crônicas relacionadas ao fígado ocorrem pela destruição progressiva e a regeneração do parênquima hepático, levando à fibrose e cirrose. A cirrose é a forma avançada da DHC e pode evoluir para insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular (CHC), sendo resultado de diversos fatores etiológicos como necrose, regeneração celular e fibrose. A cirrose e suas complicações são questões importantes de saúde pública, sendo uma das causas de morte e incapacidade em todo o mundo, em ambos os sexos (HUANG; LIU; YU, 2017; VARGAS et al., 2017).

O consumo de álcool em excesso está associado de forma significativa à morbidade e mortalidade. O termo doença hepática alcoólica (DHA) compreende algumas doenças com características patológicas semelhantes, incluindo esteatose isolada, esteato-hepatite alcoólica e cirrose hepática (HUANG; LIU; YU, 2017). A cirrose hepática se destaca como uma morbidade crônica fatal associada ao uso/dependência de álcool (REHM et al., 2009).

A cirrose é a 11ª causa mais comum de morte no mundo e o consumo de álcool (ASRANI et al., 2019). A estimativa é que 48% das mortes por cirrose sejam atribuídos ao consumo de álcool (REHM; SAMOKHVALOV; SHIELD, 2013). Além disso, existe uma relação entre a quantidade de álcool consumida e risco de desenvolvimento da cirrose. Os homens que consomem mais que 60 gramas de álcool por dia, apresentam um maior risco relativo (RR) do que aqueles que consomem de 48 a 60 gramas por dia (RR 5,0 e 2,37, respectivamente) (REHM et al., 2010).

No Brasil, os estudos epidemiológicos a respeito do uso/dependência de álcool e cirrose hepática ainda são escassos (PORTUGAL et al., 2015). As doenças hepáticas relacionadas ao consumo de álcool são responsáveis por, aproximadamente, 20% a 30% dos transplantes de

fígado realizados nos EUA e são a segunda indicação comum para a realização de transplante nos EUA e Europa (RICE et al., 2013; SINGAL et al., 2013; STEPANOVA et al., 2014).

As infecções crônicas como as causadas pelo vírus da hepatite B (VHB) e C (VHC) estão associadas de forma frequente ao desenvolvimento da cirrose hepática, carcinoma hepatocelular (CHC), insuficiência hepática e morte (PETRUZZIELLO et al., 2016). A infecção pelo VHB tornou-se uma das principais causas de hepatite crônica, cirrose e CHC em todo o mundo (HUANG; LIU; YU, 2017).

O VHB é transmitido através do contato com sangue ou outros fluidos corporais de uma pessoa infectada. A infecção pelo VHB tem grande importância global e deve-se considerar a sua magnitude epidemiológica. Segundo publicação da *World Gastroenterology Organization* (WGO), existem 250 milhões de pacientes cronicamente infectados e que correm o risco de desenvolver doenças hepáticas relacionada a infecção pelo vírus. A estimativa é que cerca de 15% a 40% destes pacientes desenvolverão cirrose, evoluindo para insuficiência hepática e/ou CHC durante sua vida. O mesmo documento estima que 1 milhão de pessoas morrem anualmente pela infecção crônica pelo VHB e suas complicações (WGO, 2015).

A prevalência do VHB varia entre as regiões do mundo e existe a classificação entre áreas de alta, média, baixa e muito baixa endemicidade. Em áreas consideradas de baixa endemicidade, a população infectada com VHB varia entre 70% a 90% com idade menor que 40 anos e, entre estas, 8% a 20% desenvolvem infecção crônica com persistência do vírus. A prevalência de infecção crônica pelo VHB em regiões como o sudeste da Ásia, China, região amazônica e África subsaariana varia em 10% e, na Europa Ocidental e América do Norte esta prevalência é menor que 1% (WGO, 2015).

A hepatite C crônica afeta, aproximadamente, 185 milhões de indivíduos no mundo, sendo considerada uma questão de relevância mundial e uma das principais causas mundiais de morte e morbidade (COOKE et al., 2013; LAVANCHY, 2011; MOHD HANAFIAH et al., 2013). Mohd Hanafiah e colaboradores revelaram um aumento na prevalência da infecção pelo VHC na última década em 2,8% (MOHD HANAFIAH et al., 2013). O VHC é a causa mais comum de insuficiência hepática terminal e a principal indicação para o transplante de fígado nos países desenvolvidos (HUANG; LIU; YU, 2017).

Apesar da sua relevância a nível global, existe considerável variação geográfica de sua distribuição (WASLEY; ALTER, 2000). São consideradas de baixa prevalência as regiões da Ásia-Pacífico, a América Latina Tropical e a América do Norte (<1,5%); de prevalência moderada o Sul e Sudeste Asiático, África Subsaariana, América Latina, Andina, Central e Sul, Caribe, Oceania, Australásia e Europa Central, Oriental e Ocidental (1,5% a 3,5%) e alta prevalência da Ásia Central e Oriental e Norte da África/Oriente Médio (MOHD HANAFIAH et al., 2013).

No Brasil, um estudo de base populacional publicado em 2017, avaliou a prevalência de hepatites virais em todo o país. Entre 1999 e 2016, foram notificados 212.031 casos confirmados de hepatite B e 319.751 casos relacionados a hepatite C. Em relação à hepatite B, em 2016 a taxa de detecção atingiu 6,9 casos para cada 100 mil habitantes, sendo a maioria dos casos concentrados na região Sudeste (35,4%), seguida das regiões Sul (31,6%), Norte (14,2%), Nordeste (9,4%) e Centro-Oeste (9,3%). A taxa de detecção da hepatite C atingiu 13,3 casos por 100 mil habitantes no mesmo ano e a maioria dos casos foram encontrados na região Sudeste (64,1%), Sul (24,5%), Nordeste (5,5%), Centro-Oeste (3,3%) e no Norte (2,5%) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

A DHGNA é definida pelo acúmulo anormal de triacilglicerois nos hepatócitos. Um dos critérios mais importante para o seu diagnóstico é o consumo de álcool em quantidades limitadas, além de serem excluídas outras causas de deposição de gordura no fígado (FABBRINI; MAGKOS, 2015; MILIC; ŠTIMAC, 2012). A DHGNA é uma DHC, que tem como característica a resistência à insulina e, frequentemente, outros fatores de risco como diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), obesidade visceral, hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia podem ser encontrados e, por isso, os estudos relacionam a doença com a Síndrome Metabólica (SM) e maior risco de doenças cardiovasculares (ARSLAN, 2014; CHAVES et al., 2012; FABBRINI; MAGKOS, 2015). A DHGNA engloba desde a esteatose hepática até a EHNA e a progressão da doença pode levar a fibrose e, de forma mais grave, o CHC (HUANG; LIU; YU, 2017; VARGAS et al., 2017).

A prevalência da DHGNA é de 20% a 30% na população europeia e, considerando a população a ser estudada, os números relacionados à doença podem aumentar consideravelmente. Na população com obesidade e diabetes, a prevalência pode ser de 75% e em indivíduos com obesidade mórbida este percentual chega a 90% (LABRECQUE et al., 2014). A prevalência da DHGNA no Brasil não é conhecida. Um estudo delineou uma

descrição dos pacientes com DHGNA em vários centros médicos no país e foi constatado que estes apresentavam obesidade, sobrepeso e diagnóstico de SM (COTRIM et al., 2011). Outro dado interessante é que, como causa primária, a DHGNA representa a terceira causa mais comum de transplante hepático nos USA (8,5%) (CHARLTON et al., 2011).

2.2. Fisiopatologia da cirrose hepática

O fígado é o maior órgão maciço do corpo humano, representando aproximadamente 2% a 3% do peso corporal médio. É formado pelas células parenquimais (hepatócitos) e quatro tipos de células não parenquimais como as CES, as células de Kupfer, células estreladas hepáticas (CEH) e células pit ou NK associadas ao fígado (BECKWITT et al., 2018).

Os hepatócitos compreendem 60% das células hepáticas totais e 80% do volume do órgão. Estas células são responsáveis pelas atividades metabólicas do fígado, incluindo a ação das isoformas do CYP450, produção, liberação de proteínas de fase aguda, produção de proteínas plasmáticas (como albumina e fatores de coagulação) e a integração de vários componentes do metabolismo de glicose, lipídios, nitrogênio e oxidação (BECKWITT et al., 2018).

As células não parenquimatosas compõem os 40% remanescentes das células do fígado e desempenham papel importante na arquitetura tecidual e na mediação das respostas do tecido a estímulos metabólicos e tóxicos, além de apoiarem a função dos hepatócitos. As células de Kupffer desempenham um papel significativo na resposta do órgão à lesão, por meio de produção de citocinas e ERO (DELEVE, 2013). Enquanto as CEH respondem à lesão de formas distintas: remodelação da MEC do fígado mediante a expressão de um fenótipo de miofibroblastos e aumentando a atividade do CYP450 dos hepatócitos (THOMAS et al., 2005). Além disso, a proliferação das células endoteliais sinusoidais em resposta a lesões parece auxiliar a capacidade regenerativa do fígado (DELEVE, 2013). Desta forma, as células não parenquimatosas complementam as funções dos hepatócitos, auxiliando com estímulos pró-regenerativos, pró-inflamatórios e pró-fibróticos (BECKWITT et al., 2018).

O fígado possui uma capacidade única de se regenerar em resposta a injúrias e, desta forma, o órgão continua a desempenhar suas funções complexas, apesar de lesões significativas (MAO; GLORIOSO; NYBERG, 2014). A regeneração do fígado é observada após ressecção, transplante hepático e lesão hepática tóxica. O processo envolve hiperplasia de todos os tipos de células do fígado. A replicação de hepatócitos geralmente acontece em apenas um dia e das células não-parenquimatosas, como células endoteliais, células de Kupffer e células biliares começa mais tardiamente (CLAVIEN et al., 2007). Apesar das pesquisas sobre a regeneração hepática, os sinais moleculares responsáveis em manter um volume original do órgão ainda não são claros (KWON; LEE; CHOI, 2015).

A regeneração hepática padrão normalmente acontece com a proliferação dos hepatócitos após a lesão hepática. O fator de necrose tumoral α (TNF- α) e a interleucina 6 (IL-6), citocinas liberadas pelas células de Kupffer são importantes mediadores na regeneração do órgão, assim como o fator de crescimento de hepatócitos (HGF), fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator transformador de crescimento (TGF- α). O HGF é um potente estimulador da proliferação de hepatócito e tem atuação importante no início da regeneração hepática. O TGF- α tem atuação importante no estágio mais posterior da regeneração hepática, sendo um inibidor notável da proliferação de hepatócitos (KWON; LEE; CHOI, 2015).

As doenças fibróticas são caracterizadas pela formação de tecido conjuntivo fibroso em excesso, o que prejudica consideravelmente o funcionamento normal do órgão. O processo de fibrogênese hepática constitui uma resposta a agravo persistente de células hepáticas com reações inflamatórias crônicas. Em situações relativas a danos hepáticos agudos, o fígado possui potencial de estabelecer rapidamente a integridade estrutural hepática, enquanto nas lesões crônicas a ativação das células fibrogênicas e um acúmulo de matriz extracelular contribuem para a distorção do parênquima hepático com deterioração progressiva da função hepática (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

A fibrose hepática é uma condição comum nas doenças crônicas do fígado e ocorre após uma recuperação incompleta dos danos aos hepatócitos. A progressão da fibrose caracteriza-se pelo dano hepatocelular e inflamação, desencadeando eventos celulares importantes que resultam na deposição de colágeno e na ruptura da arquitetura hepática normal, culminando em cirrose, hipertensão portal e insuficiência hepática (ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

A cirrose hepática é evidenciada pelo processo de fibrose hepática difusa, transformação nodular e perda da arquitetura normal do órgão. As condições clínicas que contribuem para a fibrose hepática são, principalmente, a EHNA, a doença hepática alcoólica e as hepatites virais. Outras causas também associadas são insultos induzidos por toxinas (por exemplo, álcool, drogas), distúrbios colestáticos, hepatite auto-imune e doenças metabólicas hereditárias (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

A lesão hepática é o evento inicial no processo de cirrose, que corrobora com uma reação inflamatória e resulta na ativação de CEH e aumento da deposição de matriz extracelular (MEC). Outros aspectos como estresse oxidativo, o estresse nitrosativo e a apoptose estão associados à inflamação das células hepáticas (ALTAMIRANO-BARRERA; BARRANCO-FRAGOSO; MÉNDEZ-SÁNCHEZ, 2017; ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017). Pode progredir para a cirrose, caracterizando em alterações parenquimatosas e vasculares da arquitetura do fígado, juntamente com a presença de nódulos regenerativos (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

O acúmulo de MEC é a característica mais importante na patogênese das doenças fibróticas. A MEC é composta por uma rede de colágenos e glicosaminoglicanos, incluindo vários colágenos, fibronectina, lamininas e trombospondina, entre outros (ZHANG; YU; MO, 2011). Uma das principais funções da MEC é manter a integridade e a homeostase dos tecidos e fornecer um reservatório de citocinas e fatores de crescimento. Desta forma, a manutenção da homeostase da MEC é essencial para preservação da fisiologia das células e tecidos, pois o acúmulo da MEC desencadeia a progressão da fibrose e, em contrapartida, a subexpressão de componentes da MEC induz o colapso de células e tecidos (ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

Os mecanismos envolvidos na fibrose hepática, especialmente com foco na manutenção da homeostase da MEC, vêm sendo estudados, especialmente, para o desenvolvimento de opções terapêuticas que permitam prevenir, parar ou reverter a progressão da fibrose hepática e melhorar a função hepática (ALTAMIRANO-BARRERA; BARRANCO-FRAGOSO; MÉNDEZ-SÁNCHEZ, 2017; ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

Alguns aspectos associados às doenças hepáticas merecem destaque, especialmente, a lesão hepática responsável pelo início da cascata fibrogênica, as CEH que produzem a MEC e

a resposta imunoinflamatória presente na modulação do processo fibrótico (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

2. 2. 1. Lesão hepática e cascata fibrogênica

As células hepáticas são altamente expostas a diversos agentes nocivos, como os vírus hepatotrópicos (VHB, VHC e vírus da hepatite D - VHD), álcool, sobrecarga de ácidos graxos ou outros metabólitos tóxicos, incluindo ácidos biliares. As DHC quase sempre apresentam aumento do estresse oxidativo, independentemente da causa do dano hepático (CICHOŹ-LACH, 2014).

O estresse oxidativo representa o desequilíbrio entre a produção e eliminação de ERO, assim como a redução da produção de antioxidantes. Em condições fisiológicas específicas, o estresse oxidativo e a geração de ERO podem ser úteis. No entanto, na maioria das vezes, grandes concentrações de ERO e estresse oxidativo induzirão a morte celular por mecanismos necróticos e/ou apoptóticos, levando à lesão celular e tecidual (LI et al., 2015). No fígado, o estresse oxidativo em excesso pode contribuir para a morte celular, infiltração imune, esteatose hepatocelular e, de forma persistente, pode contribuir para a fibrose hepática (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

O estresse oxidativo desencadeia danos hepáticos por induzir alterações irreversíveis de lipídios, proteínas e conteúdo de DNA, além de atuar em vias que controlam funções biológicas normais. Considerando que estas vias regulam a transcrição de genes, expressão de proteínas, apoptose celular e ativação de CEH, o estresse oxidativo é um dos mecanismos patológicos que conduzem ao início e a progressão de várias doenças do fígado, como hepatite viral crônica, doenças hepáticas alcoólicas e esteato-hepatite não alcoólica (LI et al., 2015).

As células parenquimatosas são células primárias submetidas à lesão induzida por estresse oxidativo no fígado. Diversas organelas das células parenquimais, como a mitocôndria, microssomas e peroxissomas podem produzir ERO. Além disso, as células de Kupffer, CEH e células endoteliais são potencialmente mais expostas ou sensíveis a moléculas relacionadas ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo induz a produção de diversas citocinas como o TNF- α pelas células de Kupffer e promovem a inflamação e

apoptose. Nas CEH, a proliferação e síntese de colágeno são desencadeadas pela peroxidação lipídica causada pelo estresse oxidativo (LI et al., 2015).

As vias de morte celular, necrose e apoptose, podem estar relacionados a eventos relacionados ao estresse oxidativo. A apoptose, caracterizada pelo encolhimento celular, condensação nuclear e fragmentação pode contribuir para o desenvolvimento da fibrose hepática e é comumente encontrada nas doenças hepáticas virais, colestática, gordurosa e alcoólica (LUEDDE; KAPLOWITZ; SCHWABE, 2014). A morte celular apoptótica das células parenquimatosas pode ser mediada por vários estímulos, incluindo os ligantes Fas e TNF α e pode ser considerada como uma forma de iniciar e promover a cascata fibrogênica (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

Outras vias de morte celular, como a necroptose e a piroptose, têm sido estudadas na fisiopatologia da lesão hepática. A necroptose representa uma forma específica de via de morte celular necrótica que é regulada por proteínas que interagem com receptores (RIPs), entre eles o RIP3 que parece ser um regulador chave da lesão hepática esteatótica. A piroptose está associada a ativação do inflamassoma, colaborando para a morte celular. Esta via de morte celular demonstrou contribuir para o desenvolvimento da fibrose hepática em cenários diferentes de lesão hepática (ZOUBEK; TRAUTWEIN; STRNAD, 2017).

2.2.2. Resposta imunoinflamatória na modulação do processo fibrótico

O sistema imune tem atuação importante no processo de cicatrização do fígado, contribuindo para a progressão e, também, de forma contrária, para a resolução da fibrose hepática. O processo de fibrose é complexo, que envolve células hepáticas parenquimatosas e não parenquimatosas e inclui células imunes. As células de Kupffer, os neutrófilos, os linfócitos T, as células dendríticas e outras populações de células são recrutados durante a lesão celular (KOYAMA; BRENNER, 2017; TACKE, 2017).

As células de Kupffer desempenham um papel central no processo inflamatório do fígado. São macrófagos residentes que se localizam no lúmen dos sinusóides hepáticos, representando cerca de 30% das células sinusoidais. As células de Kupffer, em resposta à lesão dos hepatócitos, se ativam e expressam moléculas de sinalização e citocinas. As células de Kupffer ativadas exibem marcadores de macrófagos semelhantes a M1 ou macrófagos semelhantes a M2, dependendo dos sinais que recebem do seu ambiente. A inflamação do

figado é regulada pelo equilíbrio das células de Kupffer pró-inflamatórias M1 e células de Kupffer anti-inflamatórias M2. As células de Kupffer são expostas a diversas substâncias, entre nutrientes e produtos bacterianos do intestino, por meio da circulação portal e a sua maior contribuição é detectar e remover patógenos e moléculas danosas por meio de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) (WAN et al., 2014).

Os PRRs abrangem, pelo menos, duas famílias de proteínas sensoriais: receptores semelhantes à *toll* (TLRs) e os receptores do tipo NOD (NLRs), que detectam sinais de desequilíbrio, incluindo padrões moleculares associados a patógenos. Os TLRs reconhecem produtos bacterianos derivados da microbiota intestinal, como os lipopolissacarídeos (LPS) e peptideoglicanos. As células de Kupffer respondem ao LPS através de TLR4, para produzir várias citocinas inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18 e quimiocinas na doença hepática granulomatosa, lesão hepática de isquemia / reperfusão, esteatohepatite não-alcoólica (EHNA) e alcoolismo. É importante ressaltar que a ativação de muitos desses mediadores piora a resistência à insulina (RI) e a SM e, portanto, podem interferir negativamente na fisiopatologia das doenças hepáticas não alcoólicas (KOYAMA; BRENNER, 2017).

Os neutrófilos têm um papel central em diversas doenças do fígado, porém os mecanismos moleculares que permitem que essas células cheguem ao fígado e as suas funções dentro do órgão não são bem compreendidas. Sabe-se que os neutrófilos são recrutados rapidamente para locais de inflamação aguda e que, diferente dos mecanismos de tráfico de neutrófilos em outros órgãos, a adesão de neutrófilos ao fígado é independente das selectinas. Além disso, o recrutamento de neutrófilos para o fígado infeccioso/endotoxêmico é independente da integrina $\alpha 2$ e do *crosstalk* ICAM-1. O hialuronano expresso pelas células endoteliais sinusoidais do fígado interage com o CD44 na superfície dos neutrófilos, e essa interação desempenha um papel crítico no recrutamento de neutrófilos para o fígado (MCDONALD et al., 2008).

A infiltração de neutrófilos está associada à inflamação induzida pelos carboidratos e colesterol da dieta, enquanto os gatilhos não metabólicos, como LPS e IL-1 β , principalmente, induzem o acúmulo intra-hepático de células mononucleares, sugerindo que diferentes estímulos produzam respostas inflamatórias diferenciadas nos hepatócitos (LIANG et al., 2014). Os mecanismos inatos são os principais contribuintes para a inflamação do fígado, pois a inflamação no fígado é principalmente estéril, ou seja, não infecciosa (exceto a fibrose induzida por parasitas). Desta forma, os principais contribuintes para a inflamação dos

hepatócitos são as células T auxiliares 17 ou helper 17 (células Th17), células *natural killer* (células NK), células *natural killer* T (células NKT), células T invariáveis associadas à mucosa (células MAIT) e células linfoides inatas.

As células Th17 são células pró-inflamatórias e produzem citocina IL-17, sendo associadas à promoção de inflamação e fibrose hepática (GE et al., 2010; MENG et al., 2012). Em pacientes com doença hepática alcoólica, hepatites B e C crônicas as concentrações de IL-17A estão elevadas e têm relação com o aumento do número de células Th17 circulantes e manifestações histológicas da fibrose hepática (GE et al., 2010; LEMMERS et al., 2009). As células que expressam IL-17, incluindo células Th17, foram ligadas a NAFLD progressiva (RAU et al., 2016).

As células T invariáveis associadas à mucosa (células MAIT) são populações de células T e estão presentes de forma importante no fígado humano (representam 20% a 50% das células T intra-hepáticas) (DUSSEAUX et al., 2011). As células MAIT estão presentes em áreas peri-biliares dos tratos portais em adultos saudáveis. Em pacientes com hepatite autoimune, colangite biliar primária, colangite esclerosante primária, doença hepática alcoólica e EHNA, as células MAIT estão reduzidas no sangue e no fígado (JEFFERY et al., 2016). Magalhaes e colaboradores encontraram redução acentuada das células MAIT circulantes em indivíduos obesos e pacientes com DM 2 em comparação com indivíduos saudáveis (MAGALHAES et al., 2015). Apesar do papel direto das células MAIT na EHNA não ter sido demonstrado, existe esta possibilidade e a relação com a fisiopatologia da doença.

As células dendríticas são células apresentadoras de antígeno que capturam e processam antígenos, migram para órgãos linfoides e secretam citocinas para iniciar respostas imunes inatas e adaptativas. É importante ressaltar que as células dendríticas também têm funções tolerogênicas, incluindo indução de Tregs e deleção de células T ativas e minimizam reações autoimunes (GOUBIER et al., 2008). Após a lesão hepática, as células dendríticas agregam a capacidade de induzir CEH, células NK e células T para mediar a inflamação (TOKITA et al., 2008). Estas células também estão envolvidas na regressão da fibrose após lesão hepática por meio da produção de metaloproteinase 9 (MMP9) (JIAO et al., 2012).

O papel da migração das células dendríticas na fisiopatologia do fígado ainda não esteja bem definida, sabe-se que na patogênese da DHGNA as células dendríticas extra-hepáticas afetam a inflamação do fígado. No tecido adiposo, estas células controlam a inflamação regulando a mudança para respostas de células Th17 na RI associada à obesidade (BERTOLA et al., 2012).

2.2.3. Células estreladas hepáticas no processo de fibrose e cirrose hepática

As CEH, foram descritas pela primeira vez pelo anatomista alemão Carl von Kupffer no século XIX. O anatomista japonês Toshio Ito, em 1952, definiu as CEH como células de armazenamento de gordura. A padronização da nomenclatura como “células estreladas hepáticas” ocorreu em 1996 e, desde então, as CEH já receberam vários nomes como células perisinusoidais, pericitos, lipócitos, células intersticiais, células de armazenamento de gordura, células armazenadoras de vitamina A ou células Ito (HELLERBRAND, 2013; ICHIKAWA et al., 2011).

Estas células estão localizadas no espaço subendotelial de Disse, entre as células endoteliais e os hepatócitos epiteliais. Estas células são elementos não parenquimatosos essenciais e constituem aproximadamente 10% a 15% do número total de células residentes no fígado normal. As CEH exibem uma morfologia dendrítica e se abrigam com microprojeções espinhosas da camada de células endoteliais dos sinusoides, proporcionando contato físico não apenas com as células endoteliais sinusoidais, mas também com o corpo celular para os hepatócitos (GEERTS, 2001).

Diversas funções são atribuídas as CEH, tais como armazenamento de vitamina A, funções hemodinâmicas, suporte de regeneração hepática e imunorregulação. No fígado sadio, estas células expressam o fenótipo quiescente, que é caracterizado por células pequenas que possuem baixa atividade proliferativa e sintética. O aspecto mais importante das CEH no fígado normal é o seu papel no transporte e armazenamento do retinol, sendo 80% do total de retinol no corpo como ésteres de retinila nas gotículas lipídicas no citoplasma, além de regular o transporte e o armazenamento de vitamina A. Nestas células, o retinol é esterificado e os ésteres de retinila resultantes são armazenados em gotículas de lipídeos (BLOMHOFF; BLOMHOFF, 2006).

O fígado tem uma grande capacidade de crescimento e as CEH têm um papel importante na regeneração do órgão, tanto como regulador positivo na fase inicial e um regulador negativo na fase terminal da regeneração hepática, através da interação célula-célula e de citocinas (CHEN et al., 2012). Além disso, as CEH possuem propriedades imunológicas e desempenham um papel regulatório na hepatite viral crônica, minimizando os efeitos dos imunossupressores sem afetar a rejeição (SU et al., 2012).

Em condições patológicas, as CEH são ativadas e adquirem um fenótipo semelhante a miofibroblastos ativados, começam a proliferar e, a partir disso, expressam vários genes pró-inflamatórios e profibrogênicos. Esses processos são particularmente importantes no desenvolvimento de cirrose, hipertensão portal e CHC. A fibrose hepática, característica da cirrose, é definida como um excesso de MEC, que surge do desequilíbrio entre a síntese aumentada e a degradação diminuída. As CEH têm papel essencial na produção de MEC, além de outras substâncias envolvidas no processo de fibrose (BLOMHOFF; BLOMHOFF, 2006; HELLERBRAND, 2013; KISSELEVA, 2017).

As CEH ativadas sintetizam e secretam uma maior quantidade de componentes da MEC como colágeno, proteoglicano, glicosaminoglicano e glicoproteína. Outros tipos de compostos estão envolvidos neste processo como as citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), TGF α e fator de crescimento de queratinócitos (KGF) (BORKHAM-KAMPHORST et al., 2007; IREDALE; THOMPSON; HENDERSON, 2013).

Outras células como fibroblastos portais, células mesoteliais e fibrócitos derivados da medula óssea também são produtores de MEC (KISSELEVA, 2017). A deposição de MEC é ainda reforçada pela produção de inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs), que impedem a degradação da MEC, contribuindo para o acúmulo de líquido da MEC, com ruptura gradual da estrutura hepática normal (MORMONE; GEORGE; NIETO, 2011).

No processo de ativação das CEH, a expressão e secreção de citocinas pró e anti-inflamatórias, bem como de fatores de crescimento estão alteradas e aumentadas de forma importante. O TGF- β é o mais potente indutor da expressão de colágeno I e outros componentes da matriz extracelular pela CEH. O PDGF é um potente indutor da proliferação de CEH. Ambos os fatores estão associados a ativação das CEH e seu papel na fisiopatologia das doenças hepáticas crônicas, especialmente no processo de fibrose e cirrose hepática (HELLERBRAND, 2013).

O TGF- β é um regulador central na DHC. As citocinas da família TGF influenciam diversos processos celulares, incluindo diferenciação, proliferação, apoptose e migração e, por isso, contribuem para todos os estágios da progressão da doença, desde a lesão inicial do fígado, passando pela inflamação e fibrose, até cirrose e CHC. As concentrações séricas e teciduais de TGF- β 1 ativo estão elevadas no processo de fibrose e tem sido interessante

investigar condutas que modulem o TGF- β 1, considerando que este fator de crescimento interfere na fibrogênese e poderia, conseqüentemente, retardar a progressão da doença (DOOLEY; TEN DIJKE, 2012).

O TGF- β tem papel essencial na fisiopatologia da fibrose hepática. Tal citocina atua na proliferação e transdiferenciação de CEH em miofibroblastos ativados, os quais apresentam características contráteis e pró-inflamatórias. Estes fatores são essenciais nos estágios da fibrose (KOYAMA; BRENNER, 2017). Desta forma, a expressão do TGF- β 1, quando moduladas, podem influenciar positiva ou negativamente o processo de fibrose e, por isso, pode ter um papel chave na fisiopatologia da doença hepática.

2.3. Diagnóstico e Classificação da Gravidade da Cirrose Hepática

A maioria das DHC é assintomática até que ocorra cirrose com descompensação clínica. Alguns eventos podem ser caracterizados como descompensação clínica, incluindo ascite, sepse, sangramento por varizes, encefalopatia e icterícia não obstrutiva. Para o diagnóstico da cirrose podem ser utilizadas imagens por ultrassonografia, tomografia computadorizada ou ressonância magnética de um fígado irregular e nodular, assim como alterações na função hepática. Outros achados importantes incluem fígado pequeno e encolhido, esplenomegalia e evidência de colaterais portossistêmicas. A biópsia hepática raramente é necessária, porém pode ser utilizadas para confirmar a etiologia em casos específicos (TSOCHATZIS; BOSCH; BURROUGHS, 2014).

A gravidade da cirrose é classificada principalmente pelo critério Child & Pugh (1973), de acordo com presença e o grau de ascite, encefalopatia hepática, alterações nas concentrações de albumina, bilirrubina total (BT) e tempo de protrombina em segundos. Essas variáveis são pontuadas de 1 a 3 e os pacientes com cirrose hepática são classificados em três grupos de acordo com a soma das variáveis. Desta forma, os pacientes com somatório entre 5-6 pontos pertencem ao grupo A, entre 7-9 pontos ao grupo B e entre 10-15 pontos ao grupo C (Quadro 01) (JACOB et al., 2015).

Quadro 1: Classificação da gravidade da doença hepática de acordo com o critério de Child & Pugh

Variáveis	1 ponto	2 pontos	3 pontos
Encefalopatia hepática	Ausente	Grau 1 – 2	Grau 3- 4
Ascite	Ausente	Leve – moderada	Leve – moderada
Albumina (g/dL)	> 3,5	2,8 – 3,5	< 2,8
Bilirrubina total (mg/dL)	< 2,0	2,0 – 3,0	> 3,0
Tempo de protrombina (segundos acima do controle)	< 4,0	4,0 – 6,0	> 6,0

Child classe A: 5 a 6 pontos; Child classe B: 7 a 9 pontos; Child classe C: 10 a 15 pontos.

Fonte: PUGH et al., 1973

O grau de ascite é classificado em leve, moderado ou grave segundo avaliação clínica, resistência à terapêutica diurética e/ou ultra-sonografia abdominal. A classificação da EH ocorre considerando critérios relacionados a sinais clínicos característicos, especialmente na fala e no comportamento do paciente. A EH é categorizada nos estágios descritos no quadro 02 (PUGH et al., 1973).

Quadro 2. Estágios de encefalopatia hepática

Estágio 1	Alteração no padrão sono-vigília, confusão mental leve, pronúncia alterada das palavras, tremor (<i>flapping</i>) discreto.
Estágio 2	Acentuação do estágio 1, comportamento inapropriado, insônia, <i>flapping</i> presente e facilmente induzido.
Estágio 3	Fala incoerente, confusão mental marcante, sonolência, mas facilmente despertável, <i>flapping</i> presente.
Estágio 4	Coma.

Fonte: TREY; BURNS; SAUNDERS, 1966

2. 4. Vitamina A

A vitamina A é um termo genérico que engloba um grande número de compostos orgânicos insaturados, de estrutura química e atividades biológicas relacionadas ao retinol. Este grupo de compostos orgânicos insaturados incluem retinol, retinal, ácido retinoico (AR) e compostos relacionados conhecidos como retinoides. O β -caroteno e outros carotenóides que podem ser convertidos pelo fígado, em retinol são referidos como carotenóides provitamina A (HUANG et al., 2018; TANUMIHARDJO et al., 2016).

Os retinoides compõe a família de metabólitos ou análogos da vitamina A, incluindo os seguintes:

- 1) Pró-vitamina A natural, vitamina A e outros precursores de ácido retinoico, que não podem se ligar a receptores nucleares retinoides, mas são caracterizados pelo seu potencial de serem convertidos em ácidos retinoicos;
- 2) Ácidos retinoicos naturais, incluindo o ácido all-trans-retinoico (AATR) e o ácido 13-cis-retinoico, que se ligam e ativam os receptores do ácido retinoico (RARs,) e o ácido 9-cisretinoico, que liga e ativa o RARs e receptores retinoides X (RXRs); e
- 3) Retinoides sintéticos, que se ligam a um ou mais isotipos RAR e / ou RXR e exercem ações agonísticas ou antagônicas.

As principais funções dos retinoides são dependentes dos receptores (RXR e RAR) e, por isso, a conversão de vitamina A em ácidos retinoicos caracteriza-se, em grande parte, como um processo de ativação da vitamina A (HUANG et al., 2018).

Os retinoides têm ações importantes em diversos processos biológicos e são essenciais na manutenção da visão, promoção do crescimento e desenvolvimento, proteção e integridade dos epitélios (HUANG et al., 2018; TANUMIHARDJO et al., 2016).

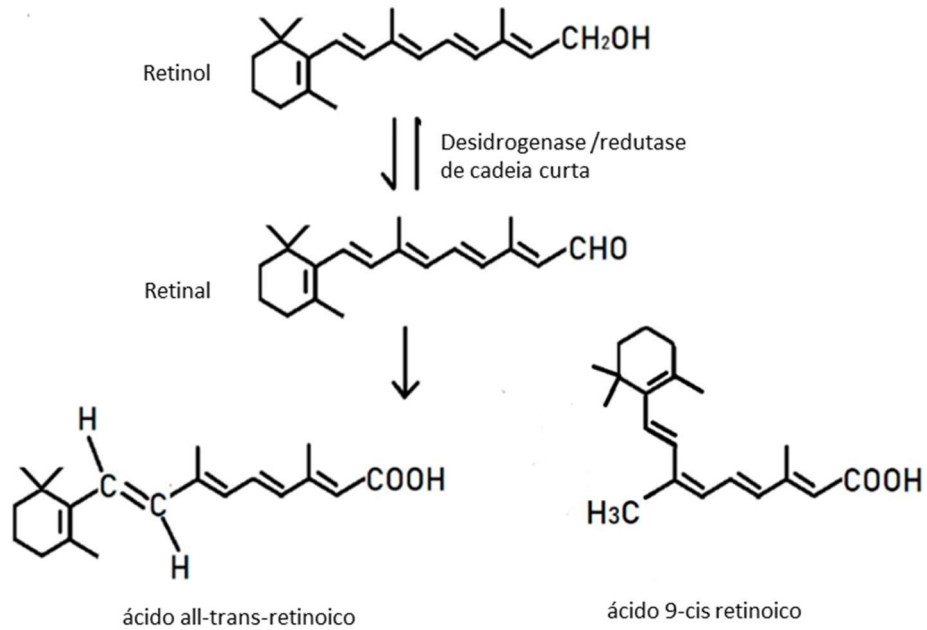


Figura 1. Retinol e seus metabólitos ou análogos da vitamina A

Fonte: Adaptado de HUANG et al., 2018

A vitamina A é lipossolúvel, considerado essencial e deve fazer parte da dieta humana (HUANG et al., 2018; TANUMIHARDJO et al., 2016). Pode ser obtida a partir de dietas vegetais (por meio da provitamina A) e animais (vitamina A pré-formada). O β -caroteno é uma fonte principal de vitamina A em vegetais, e os ésteres de retinol ocorrem em animais (OLIVEIRA, 2015; TANUMIHARDJO et al., 2016).

2. 4.1. Ácido retinoico

O AR é um metabólito da vitamina A, conhecido por sua importância nas várias funções no organismo. O AR tem três isômeros naturais: all-trans-retinoico (AATR), ácido 13-cis-retinoico e ácido 9-cisretinoico. As diferentes capacidades e atuações específicas destes isômeros poderiam ser atribuídas às suas diferentes afinidades com receptores nucleares, RARs e RXRs (ABDELHAMID; LUO, 2018; SAEED et al., 2017; ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

O fígado é o principal órgão de captação de retinoides a partir da alimentação, armazenamento de retinoides e mobilização de retinol. Estes processos envolvem especialmente os ésteres de retinol e retinil. O fígado é responsável pela síntese, catabolismo e

excreção de ácido retinoico, além de expressar todos os 3 receptores de ácido retinoico (RARs) e todos os 3 receptores retinoides X (RXRs) (ASHLA et al., 2010).

O hepatócito tem uma atuação fundamental na mediação do armazenamento, metabolismo do retinoide hepático e atuam na mobilização de retinol do fígado. Estas células também contribuem de forma significativa para ativação dos retinoides a ácido retinoico, catabolismo do AR e excreção dos produtos derivados do catabolismo do ácido retinoico (SHIRAKAMI et al., 2012).

Aproximadamente 50% a 60% das reservas totais de retinoides do corpo são encontradas em CEH. A maior parte (> 80%) dos retinoides presente nestas está na forma de ésteres de retinila, armazenadas em gotículas lipídicas citoplasmáticas e localizadas dentro das HSCs. Estas gotículas parecem ser organelas especializadas para o armazenamento de retinoides, implicando um forte papel regulador CEH em relação aos retinoides (BLANER et al., 2009; SHIRAKAMI et al., 2012).

A síntese do AR ocorre no fígado por meio de duas etapas: oxidação reversível do retinol em retinaldeído (chamado também de retinal) através da ação de um conjunto de enzimas conhecidas como retinol desidrogenases (RDH) e oxidação irreversível do retinaldeído em AR por meio de diversas enzimas distintas nomeadas de retinaldeído desidrogenases ou retinal desidrogenase (RALDH) (SHIRAKAMI et al., 2012).

O AR é catabolizado em metabólitos mais oxidados, incluindo o ácido 4-hidroxi-retinoico, ácido 4-oxo-retinoico, ácido 18-hidroxi-retinoico e ácido 5,6-epoxi-retinoico. O catabolismo do AR é um mecanismo importante, pois regula suas concentrações em células, tecidos e todo o organismo. Os metabólitos são formados primeiramente pelas ações dos membros da família do citocromo P450 (CYP). A família de enzimas CYP26 está envolvida de forma mais importante no catabolismo dos retinóides, especialmente as subfamílias CYP26A1, CYP26B1 e CYP26C1. (LAMPEN; MEYER; NAU, 2001; PETKOVICH, 2001).

Após o seu metabolismo hepático, o AR e seus metabólitos polares podem ser conjugados por meio da glucuronidação, formando metabólitos glicurônicos solúveis em água. Esta reação de conjugação é considerada, normalmente, a via catabólica que leva à eliminação do retinoide do organismo. Entretanto, é importante considerar que vários

metabólitos polares oxidados, incluindo o ácido 4-hidroxi-retinoico e o ácido 4-oxo-retinoico, e o β -glucuronídeo retinoico ainda têm atividade biológica (SHIRAKAMI et al., 2012).

2. 4.2. Vitamina A e doenças hepáticas crônicas

O metabolismo alterado dos retinoides está relacionado com doenças hepáticas, incluindo esteatose hepática, fibrose hepática, cirrose, CHC e doenças decorrentes do consumo crônico de álcool (SHIRAKAMI et al., 2012).

Nos indivíduos com doença hepática, a redução na concentração sérica de retinol é um achado frequente e ocorre pelo metabolismo alterado da vitamina, além de outros fatores que estão relacionados à fisiopatologia da doença. Diversos aspectos são encontrados na DHC que levaria a prejuízos no metabolismo do nutriente, tais como: estoque reduzido na vitamina, diminuição da síntese e/ou liberação das proteínas de ligação e transporte celular (BAENA et al., 2002; DE PAULA; RAMALHO; BRAULIO, 2010; PERES et al., 2011; UKLEJA et al., 2002). Outros fatores como ingestão alimentar de retinoides, absorção prejudicada, síntese inadequada e/ou estado hipercatabólico decorrente da patologia em si podem contribuir para a menor concentração sérica de retinol (TSIAOUSI et al., 2008).

Com a progressão da doença hepática, os estoques de retinoides e as concentrações séricas de retinol reduzem progressivamente (BOTELLA-CARRETERO et al., 2010; CHAVES et al., 2014; SAEED et al., 2017). As concentrações de retinol no soro de pacientes com cirrose hepática é menor do que em indivíduos saudáveis, da mesma forma que as concentrações são significativamente mais baixas nos pacientes com CHC quando comparados àqueles com cirrose (CLEMENTE et al., 2002; NEWSOME et al., 2000).

A inadequação do retinol sérico (concentração sérica $<1,05\mu\text{mol/L}$) em indivíduos com cirrose hepática de diversas etiologias chega a 61% e deficiência de vitamina A grave (concentração sérica $<0,35\mu\text{mol/L}$) ocorre em 18,6% destes pacientes (DE PAULA; RAMALHO; BRAULIO, 2010). O estado nutricional da vitamina A é um importante marcador da progressão da doença hepática. A concentração sérica de retinol é considerada padrão ouro na avaliação do nutriente e a redução deste marcador pode ser utilizada para monitorar a progressão da doença (SAEED et al., 2017).

O AR está envolvido em vários processos fisiológicos, como desenvolvimento embrionário, reprodução, visão, crescimento celular, diferenciação, apoptose e inflamação (MARLÉTAZ et al., 2006; ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012). Os retinoides regulam a expressão das proteínas da MEC e dos receptores de MEC da membrana celular (AGUILAR et al., 2009; LEE; JEONG, 2012). Desta forma, o AR pode induzir mudanças na composição e estrutura da MEC e, conseqüentemente, a deficiência da vitamina A pode levar a alterações na arquitetura, contribuindo para a evolução da doença hepática (BARBER et al., 2014).

O AR regula positiva e negativamente a expressão de diversas proteínas associadas a MEC e, desta forma, pode contribuir ou não para o seu acúmulo no fígado (ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012). O papel do AR na regulação da MEC e conseqüente processo de fibrose hepática tem sido controverso, especialmente quanto aos efeitos terapêuticos do nutriente na reversão da deficiência de vitamina A.

O AR pode regular positivamente a expressão de fibronectina, colágeno I, colágeno IV, trombospondina, lamininas, metaloproteinases de matriz 2 (MMPs-2), MMP-9, integrina $\alpha 5$, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e tipo 2 (IGF-2), contribuindo para o acúmulo de MEC (AL TANOURY; PISKUNOV; ROCHETTE-EGLY, 2013; BRUCK et al., 2009; DEJMEK et al., 2003; KAMBHAMPATI et al., 2003; KIM et al., 2011; MASIÁ et al., 2007; ZHAO et al., 2004).

Desta forma, a deficiência de vitamina A pode ser um fator importante no desenvolvimento da cirrose, por meio da ativação das CEH em células semelhantes à miofibroblastos, aumento da proliferação celular, aumento da deposição da MEC com conseqüente ativação fibrogênica e desorganização do parênquima hepático (BARBER et al., 2014).

Com a ativação das CEH em células semelhantes à miofibroblastos, ocorre a perda de gotículas lipídicas citoplasmáticas e, conseqüentemente, perda da vitamina A intracelular. Alguns estudos demonstraram que em estágios de fibrose e cirrose o conteúdo de vitamina A está esgotado (DE PAULA; RAMALHO; BRAULIO, 2010; NOYAN; CAVUSOGLU; ZEHRA MINBAY, 2006). Em contrapartida, a alteração do parênquima hepático parece estar relacionada à perda da disposição do cordão do hepatócito, ao acúmulo de gotículas de gordura no citoplasma associado ao aumento da adiponectina plasmática e à elevação do

marcador de lesão hepática alanina aminotransferase (ALT) plasmática (BARBER et al., 2014).

Por outro lado, o AR pode contribuir negativamente para o acúmulo da MEC, pois inibe a expressão de vários fatores relacionados a fibrose como de trombospondina, TGF- β 1, colágeno I, colágeno II, colágeno III, colágeno VII, colágeno X, lamininas, fibronectina, 5-lipoxigenase (5-LOX), procolágeno I, MMP-1 e MMP-2 (BERRY; NOY, 2009; DEJMEK et al., 2003; FU et al., 2013; KIM et al., 2011; LEBBINK et al., 2006; MALIK; WEBB; CATHERINO, 2008; MCCARROLL, 2006; MEYAARD, 2010; WATSON; HERBERT; POLLITT, 2010; XIAO et al., 2011).

Desta forma, a discussão referente ao uso da vitamina A com fins terapêuticos nos pacientes com fibrose hepática torna-se válida. Um dos pontos de maior evidência na ação contraditória do AR nas doenças fibróticas é a influência deste nutriente nas vias de sinalização e nos eventos que ocorrem posteriormente a fibrose hepática, ou seja, a participação do AR na evolução da doença hepática relacionada ao processo fibrótico (ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

Revisão de literatura reuniu diversos estudos que abordaram o efeito do AR na fibrose hepática e algumas publicações descreveram dados controversos. O papel protetor do AR contra o acúmulo de MEC, conseqüentemente, na prevenção da fibrose hepática foi encontrado em estudos *in vivo* e *in vitro*. Outros estudos apresentaram que o AR aumenta a produção de MEC e, em seqüência, contribui com o processo fibrótico (ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

O AR pode influenciar a expressão da TGF- β 1 e, como descrito anteriormente, esta citocina desenvolve um papel importante na fisiopatologia da fibrose hepática. O AR poderia inibir e favorecer a expressão de TGF- β 1, contribuindo para o papel controverso do nutriente na fibrose hepática. O efeito protetor ou adverso do AR na expressão do TGF- β 1 depende da dose oferecida (ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

Segundo Ye e Dan, doses menores de AR podem inibir a expressão de TGF- β 1 e desempenhar um papel protetor contra lesão celular, proliferação e acúmulo de colágeno (YE; DAN, 2010). Em contrapartida, parece que doses mais altas de AR, possibilita a expressão de

TGF- β 1 e influencia negativamente o acúmulo de MEC e a fibrose hepática (OKUNO et al., 1997).

O AR desempenha um papel controverso, em grande parte devido aos seguintes fatores: (1) os estudos realizados com distintas doses de AR apresentam respostas divergentes; (2) as diferentes isoformas do AR podem causar efeitos distintos; (3) os resultados obtidos nos distintos tipos de tecido ou células são desiguais; (4) as vias de sinalização são distintas e assim como serão os seus resultados; (5) ao variar a duração dos tempos das pesquisas desenvolvidas (ZHOU; DRUMMEN; QIN, 2012).

Considerando todo o exposto, sabe-se que o papel do AR na fisiopatologia das doenças fibróticas ainda é escasso e merece atenção. Além disso, é importante ressaltar que diversos estudos buscam esclarecer como a deficiência dos retinoides, bem como a sua suplementação pode atenuar ou exacerbar a evolução da patologia. Este estudo aborda a correspondência da concentração sérica basal do retinol, AR, relação ácido retinoico/retinol e parâmetros clínicos relacionados a lesão e progressão da doença hepática em pacientes com cirrose hepática Child A. Além disso, o presente estudo procura avaliar a associação da mortalidade após 10 anos de acompanhamento ambulatorial.

3. JUSTIFICATIVA

Considerando que a cirrose representa um problema grave de saúde pública e as complicações comuns à doença, como a insuficiência hepática e CHC podem contribuir para alta taxa de morbidade e mortalidade, é importante avaliar novas possibilidades para o acompanhamento e tratamento da doença.

A alteração do metabolismo dos retinoides tem sido associada à progressão das doenças hepáticas e o entendimento do papel destes metabólicos é essencial para a compreensão da relação destes e a fisiopatologia da DHC. O uso da concentração sérica de retinol para monitoramento da progressão da DHC já está bem estabelecida na literatura e tem sido utilizada na prática clínica, porém a relação do ácido retinoico nas doenças hepáticas ainda é controversa e merece atenção. Avaliar a relação entre o retinol, o ácido retinóico e a razão dos metabólitos com parâmetros clínicos associados à função e lesão hepática torna-se importante para melhor entender a contribuição destes na fase inicial da cirrose hepática.

Vista a relevância do tema, essa pesquisa será uma importante contribuição para um possível debate sobre a utilização da dosagem sérica do retinol, ácido retinoico e a razão retinol/ácido retinoico como rotina no acompanhamento ambulatorial de pacientes com doenças hepáticas, objetivando a avaliação da progressão da patologia. Além disso, o entendimento da contribuição dos nutrientes na DHC, introduz novas possibilidades para a prescrição dos metabólitos na prática clínica do nutricionista, seja no plano alimentar como na suplementação nutricional.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Avaliar a relação entre retinol e ácido retinoico com parâmetros clínicos associados a função e lesão hepática em pacientes com cirrose Child A.

4.1. Objetivos Específicos

- Avaliar a relação entre a concentração sérica de retinol e a concentração sérica de ácido retinoico.
- Avaliar a relação da concentração sérica de retinol, ácido retinoico e razão retinol/ácido retinoico com parâmetros clínicos associados à função e lesão hepática.
- Analisar a associação de mortalidade e marcadores de lesão de função hepática com a concentração de retinol, ácido retinoico (AR) e a razão retinol/ácido retinoico.

5. CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1. Desenho do estudo, população e amostra

Trata-se de um estudo do tipo longitudinal observacional, cuja população foi constituída por adultos em acompanhamento no ambulatório de fígado do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) no período de outubro de 2007 a março de 2010. O Serviço de Hepatologia do HUCFF é referência no tratamento de doenças do fígado e atende cerca de 500 pacientes por semana no ambulatório da unidade. Foram incluídos todos os pacientes elegíveis durante o tempo do estudo.

5.2. Critérios de elegibilidade

Foram selecionados pacientes de ambos os sexos, independente de etnia e classe social com cirrose hepática, diagnosticada pela presença de nódulos de regeneração ao exame histopatológico do fígado ou, na ausência de biópsia, pela presença de achados clínicos de insuficiência hepática (edema, ascite, icterícia, encefalopatia hepática (EH) e hipertensão portal, varizes do esôfago, hiperesplenismo ou achados ultra-sonográficos). Entre os diferentes graus de cirrose hepática, foram selecionados os pacientes classificados como cirrose Child A de acordo com o critério de Child & Pugh (PUGH et al., 1973).

Foram excluídos do estudo pacientes que apresentaram síndromes disabsortivas; infecção de intensidade moderada a grave; Diabetes Mellitus (DM) tipo 1 e/ou descompensada; insuficiência renal, cardíaca ou respiratória; amiloidose; uso de doses terapêuticas de vitamina A nos 30 dias anteriores a inclusão na pesquisa; doenças crônicas não estáveis; gravidez; alcoolismo e câncer.

5.3. Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada após 12 horas de jejum noturno. As amostras coletadas foram submetidas à centrifugação a 3000 rpm, por 10 minutos para separação e extração do soro. A seguir, as amostras foram armazenadas em tubos plásticos (tipo *ependorfs*) previamente rotulados, envolvidos em papel alumínio e novamente etiquetados,

para armazenamento imediato em freezer à temperatura de -80 °C até o momento das análises (COSTA, 2010).

5.4. Quantificação das concentrações séricas dos retinoides

As concentrações séricas de retinol e AR foram medidas por um método validado para extração em fase sólida em linha com cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (COSTA, 2010). Para minimizar a fotoisomerização de retinol, todas as etapas de processamento foram realizadas em uma sala com apenas uma fonte de luz de baixa intensidade. A extração em fase sólida foi realizada em um sistema Prospekt 2TM (Spark Holland, Emmen, Holanda). Foi usado um sistema de gradiente de baixa pressão automatizado da Shimadzu Co. (Tóquio, Japão) com entrega de solvente LC-10ADvp, desgaseificador DGU-10B, controlador de sistema SCL-10Avp e CTO-10Acvp para controle de temperatura de coluna. A separação cromatográfica de analitos individuais foi conseguida utilizando uma coluna analítica Shim-pack CLC-C8 de 150 mm x 4,6 mm, partículas de 5µm (Shimadzu Co., Tóquio, Japão) precedida por uma fita Supelco de 1/16", 2µm filtro pré-coluna (Supelco, Bellefonte, PA, EUA).

A eluição por extração em fase sólida e a transferência de analito para o sistema de espectrometria de massa de cromatografia líquida de alta eficiência foram realizadas usando uma fase móvel composta das seguintes misturas de solventes: mistura A = água: acetonitrila 50:50 (v/v) com 0,1% de ácido fórmico e mistura B = acetonitrila: éter metil-terc-butil 90:10 (v/v) com 0,1% de ácido fórmico. A eluição do analito foi realizada com um gradiente: de 65% da mistura A a 90% da mistura B a um caudal de 1,1 mL/min num tempo de execução total de 2 min. Para a obtenção da espectrometria de massas, utilizou-se o sistema Quattro LC de quadrupolo triplo com interface APCI da Micromass-Waters (Wythenshawe, Reino Unido), adquirido em varredura completa e sob modos de aquisição de monitoramento de íons selecionados.

Todas as caracterizações de trans-retinol foram realizadas utilizando-se 1,0 µg/mL de metanol padrão (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) infundido individualmente no espectrômetro de massas a uma vazão de 50 µL/min. Variáveis otimizadas foram calculadas para a faixa de concentrações de retinol no ser humano. Modo de íon positivo foi usado. Como os fragmentos de retinol durante o íon positivo APCI formam um pico de base de m/z 269, foi utilizada monitorização de íons selecionada para gravar os sinais a m/z 269.

Aquisição de dados, integração de pico e cálculos foram realizados utilizando o *software* MassLynx que reside no computador Compaq. Os resultados do retinol foram expressos em ng/mL e/ou $\mu\text{mol/L}$. Os resultados do AR foram expressos em ng/mL. A razão retinol/ácido retinoico é o quociente dos valores do retinol e do ácido retinoico.

5.5. Classificação dos valores séricos de retinol

Os valores séricos de retinol obtidos foram comparados com os pontos de corte para normalidade proposto pela Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996), e para tal foram apresentados em classes intervalares de 0,35 $\mu\text{mol/L}$. Deste modo, a deficiência de vitamina A (DVA) foi classificada em deficiência grave ($< 0,35 \mu\text{mol/L}$ ou 100 ng/mL), moderada ($\leq 0,35 \mu\text{mol/L}$ ou 100 ng/mL $< 0,70 \mu\text{mol/L}$ ou 200 ng/mL) e leve ($\leq 0,70 \mu\text{mol/L}$ ou 200 ng/mL $< 1,05 \mu\text{mol/L}$ ou 300 ng/mL).

5.6. Parâmetros Laboratoriais para Avaliação Hepática

Os dados dos exames laboratoriais foram coletados em prontuários e fazem parte da rotina de atendimento dos pacientes do Serviço de Hepatologia do HUCFF. A quantificação desses parâmetros foi realizada no laboratório de análises clínicas do HUCFF. Os parâmetros de normalidade dos exames bioquímicos realizados no HUCFF estão apontados no Quadro 3.

Quadro 3. Parâmetros de normalidade dos exames bioquímicos realizados no HUCFF

Parâmetros bioquímicos	Valores de normalidade adotados no HUCFF
α -fetoproteína	$< 5 \text{ UI/mL}$
Fosfatase alcalina (FA)	50-136 U/L
Aspartato Aminotransferase (TGO)	15-37 U/L
Alanina Aminotransferase (TGP)	30-65 U/L
Gama GT (GGT)	5-85 U/L
Albumina (g/dL)	3,4-5,0 g/dL
Tempo de atividade de protrombina	segundos acima do controle
Razão normalizada internacional (INR)	1,0-1,4
Bilirrubina total (BT)	0,0-1,0 mg/dL

5.7. Avaliação antropométrica

O estado nutricional foi avaliado com base na circunferência muscular do braço (CMB) e dobra cutânea tricipital (DCT), para avaliar proteína muscular e tecido adiposo, respectivamente.

A CMB foi calculada de acordo com as fórmulas descritas por Frisancho, com base nas medidas da circunferência do meio do braço (CB) e da DCT (FRISANCHO, 1981).

$$CMB(cm) = CB (cm) - (DCT (mm) \times 0,314)$$

A CB foi aferida com o auxílio de fita métrica com graduação oficial de 0,5 cm de largura, flexível e inelástica. O indivíduo foi mantido com o braço flexionado em direção do tórax formando ângulo de 90° para a determinação do ponto médio entre o acrômio e o olécrano. Após a demarcação do ponto médio, o indivíduo manteve o braço estendido ao longo do corpo com a palma da mão virada para a coxa e, após esta etapa, a fita foi contornada ao braço no ponto marcado de forma ajustada e circunferência foi medida. Os valores obtidos foram classificados em percentis de acordo com valores-padrão, para sexo e idade (FRISANCHO, 1981).

Para obtenção da DCT utilizou-se paquímetro (marca: Lange Skinfold Caliper) e a medida foi realizada na fase posterior do braço, paralelamente ao eixo longitudinal, no ponto médio da distância entre o acrômio e o olécrano, destacando-se com polegar e o indicador esquerdo a gordura subcutânea sobre o tríceps (a 1 cm do ponto marcado). Foram efetuadas três medidas consecutivas, sendo considerado o valor médio das leituras. Os valores obtidos foram classificados em percentis de acordo com valores-padrão, para sexo e idade (FRISANCHO, 1981).

5.8. Avaliação da ocorrência de óbito

A coleta de dados sobre a ocorrência de óbito dos pacientes foi realizada no mês de dezembro de 2017 no Serviço de Documentação Médica do HUCFF por meio de pesquisa nos prontuários dos participantes.

Nos casos em que não foi confirmado o óbito ou a continuidade do tratamento no ambulatório, foi realizado contato telefônico ou consulta pelo *site* da Corregedoria Geral da Justiça do Estado do Rio de Janeiro, utilizando o Portal Extra Judicial – Consulta de Nascimento e Óbitos. Os indivíduos que não obtivemos informação sobre o desfecho clínico foram excluídos da pesquisa.

5.9. Análise de dados

Após o término da coleta de informações dos prontuários, os dados foram revisados pela pesquisadora. Os dados obtidos foram inseridos no programa estatístico *Statistical package for the Social Sciences* (SPSS) for Windows versão 21.0. Para a descrição da amostra, estatísticas descritivas foram calculadas para os dados de acordo com a natureza das variáveis em estudo.

A análise apresentou na forma de tabelas os dados observados, expressos pelas medidas de tendência central e de dispersão (média, desvio padrão, mediana e intervalo interquartilico) para dados numéricos, e frequência e percentual (n e %) para dados categóricos.

A análise inferencial foi composta pelos seguintes métodos:

- a associação entre as concentrações séricas basais com as variáveis laboratoriais foi analisada pelo coeficiente de correlação de Spearman.
- a comparação das medianas foi realizada por meio do teste de Mann-Whitney.

Foi realizada uma análise prévia para verificar a normalidade das variáveis. Para tal, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk juntamente com a análise gráfica dos histogramas. Uma vez que algumas variáveis apresentaram distribuição não-Gaussiana, em pelo menos um dos grupos, foram utilizados testes não paramétricos correspondentes. O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5%. A análise estatística foi processada pelo software estatístico SPSS, versão 21.

5.10. Aspectos Éticos

O projeto seguiu as normas vigentes do Conselho Nacional de Saúde (CNS), sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (Protocolo de Pesquisa nº 068/01 – CEP). Os pacientes envolvidos na pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1).

6. RESULTADOS

Os resultados e discussão serão apresentados por meio de manuscrito:

6.10. Manuscrito: RELAÇÃO ENTRE RETINOL E ÁCIDO RETINOICO COM PARAMETROS CLÍNICOS EM PACIENTES COM CIRROSE CHILD A

Manuscrito: RELAÇÃO ENTRE RETINOL E ÁCIDO RETINOICO COM PARAMETROS CLÍNICOS EM PACIENTES COM CIRROSE CHILD A

RESUMO

O estudo objetivou avaliar a associação de mortalidade e marcadores de lesão e função hepática com retinol, ácido retinoico (AR) e a razão retinol/ácido retinoico na cirrose hepática. Trata-se de estudo longitudinal observacional com pacientes atendidos entre outubro de 2007 a março de 2010. Foram elegíveis pacientes com cirrose hepática Child A com diversas etiologias. Foram avaliadas as concentrações séricas de retinol, e AR após jejum noturno. A razão retinol/ácido retinoico é o quociente dos valores. Para avaliação do estado nutricional, utilizou-se a circunferência muscular do braço (CMB) e dobra cutânea tricípital (DCT). A mortalidade foi avaliada após 10 anos. Para a análise inferencial utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman, teste de Mann-Whitney e teste de Shapiro-Wilk. O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5%. A amostra foi composta de 57 pacientes. As medianas encontradas foram: idade 57,5 (51,3-65,8) anos, retinol 70,15 (57,80-86,88) ng/mL, AR 2,05 (1,54-2,56) ng/mL e razão retinol/ácido retinoico 36,90 (29,25-46,35). Encontrou-se correlação inversa e significativa entre o AR e o retinol ($p = 0,038$), entre o AR e a transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e entre a razão retinol/ácido retinoico e a transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) ($p=0,011$). O retinol não apresentou correlação significativa com os parâmetros do estudo. Como conclusão, o AR e a razão retinol/ácido retinoico se relacionaram com marcadores de função e lesão hepática. A mortalidade não se correlacionou com a concentração sérica de retinol, AR e razão retinol/ácido retinoico nos paciente com cirrose Child A.

Palavras-chave: retinol; ácido retinoico; cirrose; doença hepática crônica; lesão hepática; doença de fígado.

RELATIONSHIP BETWEEN RETINOL, RETINOIC ACID AND CLINICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CIRROSE CHILD A.

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the association of mortality and markers of liver function damage with retinol, retinoic acid (RA) and the retinol/retinoic acid ratio in liver cirrhosis. This is a clinical and longitudinal observational with patients seen between October 2007 and March 2010. Patients with Child A hepatic cirrhosis with different etiologies were eligible. Serum concentrations of retinol, RA after nocturnal fasting were evaluated. The retinol retinoic acid ratio is the quotient of the values. To evaluate the nutritional status, upper arm muscle circumference and tricipital skin fold (TSF) were used. Mortality was assessed after 10 years. The Spearman correlation coefficient, the Mann-Whitney test and the Shapiro-Wilk test were used for the inferential analysis. The significance criteria level adopted was 5%. The sample consisted of 57 patients, median age 57,5 (51,3-65,8). The medians found in the sample were: retinol 70,15 (57,80-86,88) ng / mL, RA 2,05 (1,54-2,56) ng / mL and retinol / retinoic acid ratio 36,90 (29,25-46,35). There was an inverse and significative correlation between RA and retinol ($p = 0,038$), between RA and AST ($p = 0.025$) and between the retinol/retinoic acid ratio and ALT ($p = 0,011$), besides a strong tendency with indirect bilirubin. Retinol showed no significant correlation with the study parameters. In conclusion, RA and retinol/retinoic acid ratio were related to markers of liver function and injury. Mortality did not correlate with serum retinol, RA and retinol/retinoic acid ratio in patients with Child A cirrhosis.

Keywords: retinol; retinoic acid; cirrhosis; chronic liver disease; liver injury; liver disease.

INTRODUÇÃO

Os retinoides têm ações importantes em diversos processos biológicos, como atuação na proliferação e diferenciação celular, manutenção da visão, proteção e integridade do epitélio e muco. Tem ação antioxidante, na apoptose e na imunidade (HUANG et al., 2018; TANUMIHARDJO et al., 2016). O fígado é o principal órgão envolvido no metabolismo dos retinoides. A vitamina A hepática é obtida por diversas fontes e pode ser metabolizada a diversos substratos, incluindo o ácido retinoico (AR). As células estreladas hepáticas (CEH) compreendem funções especializadas, tais como armazenamento de vitamina A, funções hemodinâmicas, suporte de regeneração hepática e imunorregulação (CHEN et al., 2012; SU et al., 2012).

Em condições patológicas, as CEH são ativadas e ocorre perda da vitamina A intracelular (DE PAULA; RAMALHO; BRAULIO, 2010; NOYAN; CAVUSOGLU; ZEHRA MINBAY, 2006). Algumas questões ainda não estão esclarecidas, como o mecanismo relacionado à perda intracelular e, especialmente, como esta perda contribui para a ativação das CEH e o processo de fibrose hepática. Tem sido sugerida uma potencial ligação entre a perda de retinol e o aumento da formação de AR, o que pode desempenhar um papel facilitador na fibrogênese hepática mediada pelo fator de crescimento transformador β (TGF- β) (OKUNO et al., 1997).

Estudos anteriores demonstraram uma redução progressiva das concentrações séricas de retinol com o avanço da doença hepática, sendo verificados valores menores em pacientes com cirrose e CHC (CLEMENTE et al., 2002; NEWSOME et al., 2000; PERES et al., 2011). Desta forma, o retinol pode ser considerado um parâmetro bioquímico importante para avaliação de função hepática nestes pacientes. Em contrapartida, existem poucos estudos relacionando as concentrações séricas de AR nas doenças hepáticas crônicas (DHC) (LIU et al., 2015).

A hipótese de que o retinol, o AR e a razão retinol/ácido retinoico sejam biomarcadores de dano hepático, justifica-se pelo fato de que, a biotransformação dos retinoides depende dos sistemas enzimáticos hepáticos do citocromo (CYP) 450 e a progressão da doença hepática pode modificar a capacidade do fígado em realizar esta função (OSANAI, 2017; PETTINELLI et al., 2018). O decréscimo de retinol já foi relacionado à lesão e função hepática (NEWSOME et al., 2000; PERES et al., 2011) e o decréscimo de AR

tem sido relacionado à carcinogênese de alguns tipos de tumores (OSANAI, 2017; OSANAI; LEE, 2015). A razão entre precursor/produto, retinol/ácido retinoico, no entanto, ao nosso conhecimento, ainda não foi descrita. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a associação da ocorrência de óbito e marcadores de lesão e função hepática com retinol, AR e a razão retinol/ácido retinoico na cirrose hepática.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo longitudinal observacional para avaliação das concentrações de retinol, AR e razão retinol/ácido retinoico em pacientes com cirrose Child A, incluindo as etiologias viral, alcoólica e criptogênica.

Casuística

A população estudada foi constituída de pacientes (de ambos os sexos, independente de etnia e classe social) atendidos no Ambulatório do Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho – HUCFF/UFRJ no período de outubro de 2007 a março de 2010. O presente estudo tem aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (Protocolo de Pesquisa nº 068/01 – CEP). Os participantes do estudo assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram incluídos no estudo pacientes com cirrose hepática diagnosticada pela presença de nódulos de regeneração ao exame histopatológico do fígado ou, na ausência de biópsia, pela presença de achados clínicos de insuficiência hepática (edema, ascite, icterícia, encefalopatia hepática (EH) e hipertensão porta (varizes do esôfago, hiperesplenismo ou achados ultrasonográficos). Os pacientes com cirrose hepática foram avaliados em relação à presença de insuficiência hepática por meio da classificação de Child & Pugh (1973) e foram selecionados, para o presente estudo, pacientes com classificação Child A (PUGH et al., 1973).

Foram excluídos do estudo pacientes que apresentaram síndromes disabsortivas; infecção de intensidade moderada a grave; diabetes *mellitus* (DM) insulino-dependente e/ou

descompensada; insuficiência renal, cardíaca ou respiratória; amiloidose; uso de doses terapêuticas de vitamina A nos 30 dias anteriores a inclusão na pesquisa; doenças crônicas não estáveis; gravidez; alcoolismo e câncer.

Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada após 12 horas de jejum noturno. As amostras colhidas foram submetidas à centrifugação a 3000 rpm, por 10 minutos para separação e extração do soro. A seguir, as amostras foram armazenadas em tubos plásticos (tipo *eppendorfs*) previamente rotulados, envolvidos em papel alumínio e novamente etiquetados, para armazenamento imediato em freezer à temperatura de -80 °C até o momento das análises.

Os valores séricos de retinol obtidos foram comparados com os pontos de corte para normalidade proposto pela Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996), e para tal foram apresentados em classes intervalares de 0,35 $\mu\text{mol/L}$. Deste modo, a DVA foi classificada em deficiência grave ($< 0,35 \mu\text{mol/L}$ ou 100 ng/mL), moderada ($\geq 0,35 \mu\text{mol/L}$ ou 100 ng/mL $< 0,70 \mu\text{mol/L}$ ou 200 ng/mL) e leve ($\geq 0,70 \mu\text{mol/L}$ ou 200 ng/mL $< 1,05 \mu\text{mol/L}$ ou 300 ng/mL).

Os exames laboratoriais para avaliação da função e lesão hepática foram coletados em prontuários e fazem parte da rotina de atendimento dos pacientes do Serviço de Hepatologia do HUCFF.

Quantificação das concentrações séricas dos retinoides

As concentrações séricas de retinol e AR foram medidas por um método validado para extração em fase sólida em linha com cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (COSTA, 2010). Para minimizar a fotoisomerização de retinol, todas as etapas de processamento foram realizadas em uma sala com apenas uma fonte de luz de baixa intensidade. A extração em fase sólida foi realizada em um sistema Prospekt 2TM (Spark Holland, Emmen, Holanda). Foi usado um sistema de gradiente de baixa pressão automatizado da Shimadzu Co. (Tóquio, Japão) com entrega de solvente LC-10ADvp, degaseificador DGU-10B, controlador de sistema SCL-10Avp e CTO-10Acvp para controle de temperatura de coluna. A separação cromatográfica de analitos individuais foi conseguida utilizando uma coluna analítica Shim-pack CLC-C8 de 150 mm x 4,6 mm,

partículas de 5 μ m (Shimadzu Co., Tóquio, Japão) precedida por uma fita Supelco de 1/16", 2 μ m filtro pré-coluna (Supelco, Bellefonte, PA, EUA).

A eluição por extração em fase sólida e a transferência de analito para o sistema de espectrometria de massa de cromatografia líquida de alta eficiência foram realizadas usando uma fase móvel composta das seguintes misturas de solventes: mistura A = água: acetonitrila 50:50 (v/v) com 0,1% de ácido fórmico e mistura B = acetonitrilo: éter metil-terc-butil 90:10 (v/v) com 0,1% de ácido fórmico. A eluição do analito foi realizada com um gradiente: de 65% da mistura A a 90% da mistura B a um caudal de 1,1 mL/min num tempo de execução total de 2 min. Para a obtenção da espectrometria de massas, utilizou-se o sistema Quattro LC de quadrupolo triplo com interface APCI da Micromass-Waters (Wythenshawe, Reino Unido), adquirido em varredura completa e sob modos de aquisição de monitoramento de íons selecionados.

Todas as caracterizações de trans-retinol foram realizadas utilizando-se 1,0 μ g/mL de metanol padrão (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) infundido individualmente no espectrômetro de massas a uma vazão de 50 μ L/min. Variáveis otimizadas foram calculadas para a faixa de concentrações de retinol no ser humano. Modo de íon positivo foi usado. Como os fragmentos de retinol durante o íon positivo APCI formam um pico de base de m/z 269, foi utilizada monitorização de íonsseleccionada para gravar os sinais a m/z 269. Aquisição de dados, integração de pico e cálculos foram realizados utilizando o *software* MassLynx que reside no computador Compaq. Os resultados do retinol foram expressos em ng/mL e/ou μ mol/L. Os resultados do AR foram expressos em ng/mL. A razão retinol/ácido retinoico é o quociente dos valores do retinol e do AR.

Medidas antropométricas

O estado nutricional foi avaliado com base na circunferência muscular do braço (CMB) e dobra cutânea tricípital (DCT), como indicadores de proteína muscular e tecido adiposo, respectivamente. A CMB foi calculada de acordo com as fórmulas descritas por Frisancho, utilizando as medidas da circunferência do meio do braço e da DCT. Os valores obtidos foram classificados em percentis de acordo com valores-padrão, para sexo e idade (FRISANCHO, 1981). A circunferência medial e a DCT foram medidos com uma fita e um paquímetro (marca: Lange Skinfold Caliper). Para minimizar a variabilidade prática, a média de três medições consecutivas para a DCT foi registrada.

Avaliação da ocorrência de óbito

A coleta de dados sobre a ocorrência ou não de óbito dos pacientes foi realizada no mês de dezembro de 2017 no Serviço de Documentação Médica do HUCFF, por meio da pesquisa nos prontuários dos participantes. A ocorrência do óbito era confirmada no prontuário do paciente.

Nos casos em que não foi confirmado o óbito ou a continuidade do tratamento no ambulatório, foi realizado contato telefônico ou consulta pelo *site* da Corregedoria Geral da Justiça do Estado do Rio de Janeiro, utilizando o Portal Extra Judicial – Consulta de Nascimento e Óbitos. Os indivíduos que não obtivemos informação sobre o desfecho clínico foram excluídos da pesquisa.

ESTATÍSTICA

A análise descritiva apresentou na forma de tabelas os dados observados, expressos pelas medidas de tendência central e de dispersão (média, desvio padrão, mediana e intervalo interquartilico) para dados numéricos, e frequência e percentual (n e %) para dados categóricos.

A análise inferencial foi composta pelos seguintes métodos:

- a associação entre as concentrações séricas basais com as variáveis laboratoriais foi analisada pelo coeficiente de correlação de Spearman;
- a comparação das medianas foi realizada por meio do teste de Mann-Whitney.

Foi realizada uma análise prévia para verificar a normalidade das variáveis. Para tal, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk juntamente com a análise gráfica dos histogramas. Uma vez que algumas variáveis apresentaram distribuição não-Gaussiana, em pelo menos um dos grupos, foram utilizados testes não paramétricos correspondentes. O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5%. A análise estatística foi processada pelo software estatístico SPSS, versão 21.

RESULTADOS

A amostra foi composta de 57 pacientes, sendo 64,9% (n = 37) dos pacientes do sexo masculino. A mediana da idade dos indivíduos foi de 57,5 (51-65) anos, sendo que 21,0% (n = 12) da amostra encontravam-se na faixa de 31 a 50 anos, 66,7% (n = 38) encontravam-se na faixa de 51 a 70 anos, enquanto 12,3% (n = 7) da amostra possuíam idade superior a 70 anos.

A DVA foi observada em 100% (n = 57) dos pacientes, sendo que 88,1% (n = 50) apresentaram DVA grave e 11,9% (n = 7) DVA moderada, segundo a OMS. O sexo feminino apresentou maior frequência de DVA grave, com 95,2% (n = 19), enquanto o sexo masculino apresentou frequência de 86,4% (n = 31) de DVA grave. A mediana de retinol da amostra total foi de 70,15 (57,80-86,88) ng/mL ou 0,25 µmol/L. A mediana do AR foi de 2,05 (1,54-2,56) ng/mL. A mediana da razão retinol/ácido retinoico foi de 36,90 (29,25-46,35). Os dados descritivos da amostra geral encontram-se na tabela 1.

Com relação ao estado nutricional, 61,4% (n = 35) da amostra apresentaram desnutrição protéico-calórica. O sexo feminino apresentou maior prevalência de desnutrição, com 73,7% (n = 14) das mulheres desnutridas comparadas ao sexo masculino com 52,9% (n = 19) de desnutrição.

Tabela 1. Variáveis descritivas na amostra total de pacientes com cirrose Child A.

Variável	n	Mediana	IQQ
Idade (anos)	57	57,5	51,3 - 65,8
Retinol (ng/mL)	56	70,15	57,80 - 86,88
Acido Retinoico (ng/mL)	55	2,05	1,54 - 2,56
Razão Retinol/Ácido Retinoico	55	36,90	29,25 - 46,35
α-fetoproteína (UI/mL)	35	4,5	0,62 - 64,0
Fosfatase alcalina (U/L)	56	97,0	32,0 - 214,0
TGO (U/L)	56	48,5	15,0 - 171,0
TGP (U/L)	56	52,5	11,0 - 192,0

GGT (U/L)	54	92,5	15,0 - 986,0
Albumina (g/dL)	56	3,80	3,00 - 4,50
Atividade de protrombina	55	73,0	53,0 - 100,0
INR	55	1,18	1,00 - 1,44
BT (mg/dL)	56	0,83	0,20 - 3,50
BD (mg/dL)	56	0,30	0,10 - 1,20
BI (mg/dL)	56	0,50	0,10 - 2,80
Creatinina (mg/dL)	54	0,70	0,50 - 1,70

IQQ - intervalo interquartil; TGO - Transaminase glutâmico oxalacética; TGP - Transaminase glutâmico-pirúvica; GGT - Gama GT; INR - Razão normalizada internacional; BT - Bilirrubina total; BD - Bilirrubina direta; BI - Bilirrubina indireta.

Do total de pacientes, 1,6% (n = 1) possuem cirrose Child A de etiologia criptogênica; 17,7% (n = 10) causada por vírus da hepatite B (VHB), 56,5% (n = 32) por vírus da hepatite C (VHC); 14,5% (n = 8) de etiologia alcoólica; 3,2% (n = 2) de etiologia alcoólica com associação ao VHB; enquanto 6,5% (n = 4) apresentaram etiologia alcoólica associada ao VHC.

Em relação à idade, não houve diferença significativa entre as concentrações basais de retinol (p = 0,792), AR séricos (p = 0,442) e a razão retinol/ácido retinoico (p = 0,895) entre os pacientes com idade inferior ou igual/superior a 60 anos. Não houve diferenças significativas entre as concentrações basais de retinol sérico (p=0,720) e a razão retinol/ácido retinoico (p = 0,319) entre os sexos dos indivíduos da amostra. Entretanto, encontrou-se diferença significativa entre as concentrações basais de AR sérico e o sexo (p=0,029) (Tabela 2).

Tabela 2: Valores de retinol sérico basal, ácido retinoico e razão retinol/ácido retinoico, medianas e intervalo interquartil, segundo idade e sexo de pacientes com cirrose Child A.

Idade	n	%	Retinol			Ácido retinoico			Razão Retinol/Ácido Retinoico		
			Mediana	IQQ	<i>p</i>	Mediana	IQQ	<i>p</i>	Mediana	IQQ	<i>p</i>
< 60 anos	27	48	70,15	57,69-79,85	0,792	2,05	1,54 - 2,56	0,442	36,90	29,52 - 53,10	0,895
≥ 60 anos	29	52	73,85	57,69-92,54		2,06	1,54 - 3,08		36,97	27,56 - 45,22	
Sexo	n	%	Mediana	IQQ	<i>p</i>	Mediana	IQQ	<i>p</i>	Mediana	IQQ	<i>p</i>
Masculino	37	65	72	60,00-92,66	0,720	2,05	1,54 - 2,56	0,029	36,90	29,25 - 42,90	0,319
Feminino	20	35	69,92	51,69-79,61		1,54	1,03 - 2,05		36,82	28,47 - 66,26	

IQQ - intervalo interquartil

Em relação ao desfecho óbito, não foram observadas diferenças significativas entre o retinol, AR e a razão retinol/ácido retinoico no desfecho óbito. Em relação às variáveis laboratoriais, observou-se uma significância nos parâmetros: fosfatase alcalina, TGO, GGT e albumina. (Tabela 3).

Tabela 3. Descritiva das variáveis clínicas e laboratoriais para desfecho óbito em pacientes com cirrose Child A.

Variável	ÓBITO			VIVO			<i>p</i>
	n	Mediana	IQQ	n	Mediana	IQQ	
Retinol (ng/mL)	34	69,92	46,61 - 83,76	22	73,61	63,80 - 89,30	0,347
Acido Retinoico (ng/mL)	34	2,05	1,54 - 2,55	22	2,05	1,54 - 2,56	0,655
Razão Retinol/Ácido Retinoico	34	37,35	28,12 - 47,17	22	36,75	30,09 - 45,14	0,884
α-fetoproteína (UI/mL)	20	5,00	3,5 - 15,8	15	2,3	1,9 - 10,2	0,79
Fosfatase alcalina (U/L)	32	108	82 - 128	24	79	63 - 100	0,0004
TGO (U/L)	32	61,0	35 - 104	24	37,0	26 - 63	0,008

TGP (U/L)	32	54,5	43 - 91	24	43,5	33 - 84	<i>0,11</i>
GGT (U/L)	30	118	56 - 215	24	53	26 - 119	<i>0,007</i>
Albumina (g/dL)	32	3,70	3,23 - 3,90	24	4,00	3,63 - 4,18	<i>0,009</i>
Atividade de protrombina	31	73,0	61 - 86	24	72,5	59 - 92	<i>0,72</i>
INR	31	1,19	1,08 - 1,31	24	1,18	1,04 - 1,32	<i>0,70</i>
BT (mg/dL)	32	0,95	0,70 - 1,48	24	0,80	0,63 - 1,08	<i>0,85</i>
BD (mg/dL)	32	0,32	0,20 - 0,50	24	0,30	0,20 - 0,47	<i>0,17</i>
BI (mg/dL)	32	0,55	0,40 - 0,90	24	0,50	0,40 - 0,85	<i>0,68</i>
Creatinina (mg/dL)	30	0,71	0,60 - 0,93	24	0,7	0,68 - 0,91	<i>0,40</i>

IQQ - intervalo interquartil; TGO - Transaminase glutâmico oxalacética; TGP - Transaminase glutâmico-pirúvica; GGT - Gama GT; INR - Razão normalizada internacional; BT - Bilirrubina total; BD - Bilirrubina direta; BI – Bilirrubina indireta.

No presente estudo, em relação ao retinol, não foi encontrado correlação significativa com as variáveis laboratoriais analisadas no estudo (Tabela 4). Observou-se, porém, que existe correlação direta e significativa entre o AR e o retinol ($p = 0,038$), o que demonstra que quanto menor a concentração de retinol, menor o valor esperado do AR. Além disso, notou-se correlação inversa significativa entre o AR e o TGO. Demonstrando, então, que quanto menor a concentração do AR, maior o valor esperado do TGO (Tabela 5). Em relação a razão retinol/ácido retinoico, observou-se correlação inversa e significativa com a TGP, além de forte tendência para a correlação inversa com a bilirrubina indireta (Tabela 6).

Tabela 4 - Correlação entre as concentrações séricas de retinol e as variáveis laboratoriais, na amostra total de pacientes com cirrose Child A.

Variáveis Laboratoriais	Retinol Sérico ($\mu\text{mol/ L}$)		
	n	r_s	<i>p-valor</i>
α -fetoproteína	34	-0,177	0,316
Fosfatase alcalina	53	-0,070	0,620
TGO	56	-0,114	0,402
TGP	56	-0,043	0,753
GGT	53	-0,055	0,695
Albumina	56	-0,056	0,685
Atividade protrombina	55	0,008	0,955
INR	55	-0,040	0,774
BT	56	-0,160	0,240
BD	56	-0,110	0,421
BI	56	-0,176	0,195
Creatinina	51	0,052	0,714

r_s = Coeficiente de correlação de Spearman; TGO - Transaminase glutâmico oxalacética; TGP - Transaminase glutâmico-pirúvica; GGT - Gama GT; INR - Razão normalizada internacional; BT - Bilirrubina total; BD - Bilirrubina direta; BI - Bilirrubina indireta.

Tabela 5 - Correlação entre as concentrações séricas de ácido retinoico e as variáveis laboratoriais, na amostra total de pacientes com cirrose Child A

Variáveis Laboratoriais	Ácido Retinoico Sérico ($\mu\text{mol/ L}$)		
	n	r_s	<i>p</i> -valor
Retinol	58	0,274	0,038
α -fetoproteína	37	-0,046	0,788
Fosfatase alcalina	55	-0,092	0,502
TGO	58	-0,292	0,025
TGP	58	-0,090	0,501
GGT	55	0,125	0,363
Albumina	58	-0,133	0,319
Atividade protrombina	57	-0,002	0,989
INR	57	-0,091	0,502
BT	58	-0,137	0,305
BD	58	-0,036	0,791
BI	58	-0,013	0,925
Creatinina	53	0,226	0,104

r_s = Coeficiente de correlação de Spearman; TGO - Transaminase glutâmico oxalacética; TGP - Transaminase glutâmico-pirúvica; GGT - Gama GT; INR - Razão normalizada internacional; BT - Bilirrubina total; BD - Bilirrubina direta; BI - Bilirrubina indireta.

Tabela 6 - Correlação entre a razão retinol/ácido retinoico e as variáveis laboratoriais, na amostra total de pacientes com cirrose Child A

Variáveis Laboratoriais	Razão retinol/ácido retinoico		
	n	r _s	p-valor
α-fetoproteína	34	-0,088	0,620
Fosfatase alcalina	52	-0,128	0,362
TGO	54	-0,225	0,102
TGP	54	-0,342	0,011
GGT	52	0,033	0,817
Albumina	54	0,174	0,203
Atividade de protrombina	54	0,287	0,74
INR	54	-0,155	0,262
BT	54	-0,175	0,204
BD	54	-0,077	0,580
BI	54	-0,242	0,078
Creatinina	54	0,104	0,454

r_s = Coeficiente de correlação de Spearman; TGO - Transaminase glutâmico oxalacética; TGP - Transaminase glutâmico-pirúvica; GGT - Gama GT; INR - Razão normalizada internacional; BT - Bilirrubina total; BD - Bilirrubina direta; BI – Bilirrubina indireta.

DISCUSSÃO

Do nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo que avalia a concentração sérica de AR na cirrose hepática. Os pacientes apresentaram DVA, predominantemente DVA grave e de desnutrição proteico-calórica. Os pacientes do sexo feminino apresentaram valores significativamente menores de AR sérico e maior prevalência de desnutrição e de DVA grave. O AR se correlacionou positivamente com o retinol e inversamente com a TGO. Além disso,

a razão precursor/produto, retinol/AR foi inversamente relacionada a TGP e apresentou tendência a se correlacionar inversamente a bilirrubina indireta.

A frequência da deficiência de vitamina A foi superior a encontrada em estudos anteriores (DE PAULA; RAMALHO; BRAULIO, 2010; PERES et al., 2011) em pacientes com DHC de várias etiologias e em pacientes candidatos a transplante hepático, cuja frequência de DVA foi de 54,3% e 60%, respectivamente. O presente estudo abrangeu diversas etiologias de doenças hepáticas, sendo que a etiologia alcoólica perfazia 25% da amostra. O consumo crônico de etanol gera a indução do CYP2E1, que resulta no aumento da degradação do retinol a AR (SEITZ; MUELLER, 2019). De fato, Vahlquist et al observaram que a doença hepática está associada com redução grave de vitamina A sérica, mesmo quando a DHC é moderada, descrevendo concentrações dez vezes menores de vitamina A na hepatite alcoólica e 30 vezes menor e sem pacientes com cirrose alcoólica comparado aos indivíduos saudáveis (VAHLQUIST et al., 1978). Além disso, a alta frequência de DVA está em linha com resultados de estudos prévios que demonstram progressiva redução das concentrações séricas de retinol com a progressão da doença hepática (CHAVES et al., 2014; DE PAULA; RAMALHO; BRAULIO, 2010; PERES et al., 2011).

Este estudo avaliou a concentração sérica de AR nos pacientes com cirrose Child A e observou valores medianos de 2,05 ng/mL. Um estudo analisou as concentrações séricas de AR em pacientes controles, com DHGNA e EHNA ($2,70 \pm 0,52$ ng/mL; $1,42 \pm 0,47$ ng/mL e $1,14 \pm 0,26$ ng/mL, respectivamente) e, como resultado, encontrou que os valores de AR foram inversamente relacionados com a progressão da doença hepática. Em nossos achados, a concentração de AR encontrava-se superior à demonstrada nos pacientes do estudo citado acima. É importante salientar a diferença entre as populações estudadas e sua relação com o resultado encontrado. No presente estudo, os indivíduos apresentavam cirrose em estágio inicial, enquanto o estudo citado foi elaborado com pacientes com DHGNA e EHNA, estágios iniciais e reversíveis da doença hepática. Desta forma, os autores do estudo relacionam os achados com a resistência à insulina característica importante na DHGNA e EHNA e a redução da sinalização mediada pelo AR no metabolismo lipídico hepático favorecendo o acúmulo no fígado (LIU et al., 2015).

No entanto, resultados deste estudo foram inferiores ao demonstrado por Liu et al (2015) em seu grupo controle, composto por indivíduos saudáveis, que apresentaram valores de AR de 2,70 ng/mL. Existem evidências na literatura de que a *clearance* do etanol compete por vias

bioquímicas e enzimáticas comuns a biossíntese do AR, reduzindo sua síntese (DELTOUR; ANG; DUESTER, 1996; SHABTAI; FAINSOD, 2018), cabendo ressaltar que parte dos pacientes da amostra apresentava doença hepática de etiologia alcoólica. Valores reduzidos de AR podem estar relacionados com o agravamento da fibrose, já que a função das CEH é modulada pelos retinoides e pela expressão dos receptores nucleares de ácido retinoico (RAR) (CORTES et al., 2019). Estudos demonstram que o AR desempenha papel negativo na modulação da fibrose hepática, por meio de ativação de células do sistema imune, principalmente células *natural killer* (NK). As CEH ativadas expressam altos níveis do gene induzido por AR (ERA-1), que se liga ao receptor NKG2D nas células NK, ativando-o. Isso resulta em morte celular das CEH e melhora da fibrose, uma vez que as células NK ativadas são citotóxicas para as CEH ativadas (LEE; JEONG, 2012; PANEBIANCO et al., 2017). Além disso, o AR desempenha um papel importante na inibição da ativação das CEH, por meio da supressão da proteína que interage com a tioredoxina (Trx), reduzindo os níveis de estresse oxidativo celular (SHIMIZU et al., 2018).

Os indivíduos do sexo feminino apresentaram valores significativamente menores de AR, sendo tal achado, não encontrado na literatura científica. No presente trabalho, as mulheres apresentaram maior frequência de desnutrição proteico-calórica comparada aos homens, o que pode ter contribuído para a redução do AR, uma vez que estudos demonstram que a desnutrição pode acarretar na redução das proteínas de transporte plasmática e suprimir a atividade de enzimas do sistema da CYP450, que participa da biotransformação dos retinoides (BLANER et al., 2009; GEORGE; BYTH; FARRELL, 1996; LEE; SUH; LEE, 2004). Sugere-se que possa existir alguma redução na atividade de biotransformação pela família da CYP26, especialmente CYP26A1 e o CYP26B1 por serem responsáveis pela regulação nutricional de acordo com o estado nutricional de vitamina A (CATHARINE ROSS; ZOLFAGHARI, 2011; TOPLETZ et al., 2012).

Nos achados deste estudo, o retinol não se relacionou aos parâmetros de lesão e função hepática, em contraste com estudos prévios realizados em pacientes com cirrose hepática (CHAVES et al., 2014; DE PAULA; RAMALHO; BRAULIO, 2010; NEWSOME et al., 2000; PERES et al., 2011). O AR relacionou-se com a TGO, enzima marcadora de lesão hepática, e a razão precursor/produto, retinol/ácido retinoico relacionou-se com a TGP, enzima marcadora de lesão hepática e apresentou tendência de correção com a bilirrubina indireta, não foi encontrado achados na literatura nessa temática, o que dificulta a discussão

desse achado, porém demonstra o papel potencial do AR como parâmetro relacionado à função e lesão hepática na cirrose Child A.

A ocorrência de óbito em 10 anos não se relacionou a concentração sérica de retinol, AR e razão retinol/ácido retinoico na população estudada. A ocorrência de óbito relacionou-se a parâmetros laboratoriais clássicos, que caracterizam agravamento da lesão e função hepática, tais como fosfatase alcalina, TGO, GGT e albumina.

CONCLUSÃO

Alguns parâmetros de função e lesão hepática se relacionaram com o AR e com a razão retinol/ácido retinoico, enquanto não houve relação com o retinol. As enzimas de lesão hepática (TGO e TGP, respectivamente) se associaram ao AR e a razão retinol/ácido retinoico.

A mortalidade não se relacionou a concentração sérica de retinol, AR e razão retinol/ácido retinoico nos participantes do estudo, porém notou-se relação a parâmetros laboratoriais importantes na avaliação hepática. Estudos futuros são interessantes para avaliar a relação do metabólito com a progressão da doença e elucidar possíveis utilizações terapêuticas do AR na DHC.

REFERÊNCIAS

1. BLANER, W. S. et al. Hepatic stellate cell lipid droplets: A specialized lipid droplet for retinoid storage. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1791, n. 6, p. 467–473, jun. 2009.
2. CATHARINE ROSS, A.; ZOLFAGHARI, R. Cytochrome P450s in the Regulation of Cellular Retinoic Acid Metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 31, n. 1, p. 65–87, 21 ago. 2011.
3. CHAVES, G. V. et al. Association Between Liver Vitamin A Reserves and Severity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the Class III Obese Following Bariatric Surgery. **Obesity Surgery**, v. 24, n. 2, p. 219–224, fev. 2014.

4. CHEN, L. et al. HSCs play a distinct role in different phases of oval cell-mediated liver regeneration: HSCS PLAY A DISTINCT ROLE IN DIFFERENT PHASES. **Cell Biochemistry and Function**, v. 30, n. 7, p. 588–596, out. 2012.
5. CLEMENTE, C. et al. Serum retinol and risk of hepatocellular carcinoma in patients with child-Pugh class A cirrhosis. **Cancer Letters**, v. 178, n. 2, p. 123–129, 25 abr. 2002.
6. CORTES, E. et al. Retinoic Acid Receptor- β Is Downregulated in Hepatocellular Carcinoma and Cirrhosis and Its Expression Inhibits Myosin-Driven Activation and Durotaxis in Hepatic Stellate Cells: Hepatology. **Hepatology**, v. 69, n. 2, p. 785–802, fev. 2019.
7. COSTA, E. R. **Desenvolvimento e validação de método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em seqüência para quantificação simultânea de retinol e ácido retinóico em pacientes com doença hepática crônica**. 2010. 149f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)—Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
8. DE PAULA, T. P.; RAMALHO, A.; BRAULIO, V. B. The effectiveness of relative dose response to retinol intake as an evaluation of vitamin A status of cirrhotic patients: Vitamin A status and liver cirrhosis. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 23, n. 6, p. 583–589, dez. 2010.
9. DELTOUR, L.; ANG, H. L.; DUESTER, G. Ethanol inhibition of retinoic acid synthesis as a potential mechanism for fetal alcohol syndrome. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 10, n. 9, p. 1050–1057, jul. 1996.
10. FRISANCHO, A. R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, n. 11, p. 2540–2545, nov. 1981.
11. GEORGE, J.; BYTH, K.; FARRELL, G. C. Influence of clinicopathological variables on CYP protein expression in human liver. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 1, p. 33–39, jan. 1996.
12. HUANG, Z. et al. Role of Vitamin A in the Immune System. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n. 9, p. 258, 6 set. 2018.

13. LEE, J. H.; SUH, O. K.; LEE, M. G. Pharmacokinetic changes in drugs during protein-calorie malnutrition: correlation between drug metabolism and hepatic microsomal cytochrome P450 isozymes. **Archives of Pharmacal Research**, v. 27, n. 7, p. 693–712, jul. 2004.
14. LEE, Y.-S.; JEONG, W.-I. Retinoic acids and hepatic stellate cells in liver disease: Retinoic acids in liver disease. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 27, p. 75–79, mar. 2012.
15. LIU, Y. et al. Association of serum retinoic acid with hepatic steatosis and liver injury in nonalcoholic fatty liver disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, n. 1, p. 130–137, 1 jul. 2015.
16. NEWSOME, P. N. et al. Low serum retinol levels are associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 14, n. 10, p. 1295–1301, out. 2000.
17. NOYAN, S.; CAVUSOGLU, I.; ZEHRA MINBAY, F. The effect of vitamin A on CCl4-induced hepatic injuries in rats: a histochemical, immunohistochemical and ultrastructural study. **Acta Histochemica**, v. 107, n. 6, p. 421–434, fev. 2006.
18. OKUNO, M. et al. Retinoids exacerbate rat liver fibrosis by inducing the activation of latent TGF- β in liver stellate cells. **Hepatology**, v. 26, n. 4, p. 913–921, out. 1997.
19. OSANAI, M. Cellular retinoic acid bioavailability in various pathologies and its therapeutic implication: Letter to the Editor. **Pathology International**, v. 67, n. 6, p. 281–291, jun. 2017.
20. OSANAI, M.; LEE, GH. The retinoic acid-metabolizing enzyme CYP26A1 upregulates fascin and promotes the malignant behavior of breast carcinoma cells. **Oncology Reports**. v. 34, n. 2, p. 850-858, ago. 2015
21. PANEBIANCO, C. et al. Senescence in hepatic stellate cells as a mechanism of liver fibrosis reversal: a putative synergy between retinoic acid and PPAR-gamma signalings. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 17, n. 3, p. 269–280, ago. 2017.
22. PERES, W. A. F. et al. Vitamin A deficiency in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 11, p. 1724–1731, dez. 2011.

23. PETTINELLI, P. et al. Altered hepatic genes related to retinol metabolism and plasma retinol in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **PLOS ONE**, v. 13, n. 10, p. e0205747, 31 out. 2018.
24. PUGH, R. N. H. et al. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. **British Journal of Surgery**, v. 60, n. 8, p. 646–649, ago. 1973.
25. SEITZ, H.; MUELLER, S. Die Bedeutung von Cytochrom P4502E1 bei der alkoholischen Lebererkrankung und bei der alkoholmedierten Karzinogenese. **Zeitschrift für Gastroenterologie**, v. 57, n. 01, p. 37–45, jan. 2019.
26. SHABTAI, Y.; FAINSOD, A. Competition between ethanol clearance and retinoic acid biosynthesis in the induction of fetal alcohol syndrome. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 96, n. 2, p. 148–160, abr. 2018.
27. SHIMIZU, H. et al. *All-trans* retinoic acid ameliorates hepatic stellate cell activation via suppression of thioredoxin interacting protein expression. **Journal of Cellular Physiology**, v. 233, n. 1, p. 607–616, jan. 2018.
28. SU, Y.-H. et al. Hepatic Stellate Cells Attenuate the Immune Response in Renal Transplant Recipients With Chronic Hepatitis. **Transplantation Proceedings**, v. 44, n. 3, p. 725–729, abr. 2012.
29. TANUMIHARDJO, S. A. et al. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—Vitamin A Review. **The Journal of Nutrition**, v. 146, n. 9, p. 1816S-1848S, set. 2016.
30. TOPLETZ, A. R. et al. Comparison of the function and expression of CYP26A1 and CYP26B1, the two retinoic acid hydroxylases. **Biochemical Pharmacology**, v. 83, n. 1, p. 149–163, jan. 2012.
31. VAHLQUIST, A. et al. Plasma vitamin A transport and visual dark adaptation in diseases of the intestine and liver. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 38, n. 4, p. 301–308, jun. 1978.
32. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes: micronutrient series**, 1996.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados pelo presente estudo levam a conclusão que:

- A concentração sérica do retinol estava abaixo da referência em todos os pacientes.
- Todos os pacientes apresentaram DVA, predominantemente DVA grave.
- As mulheres apresentaram concentrações séricas de AR menores comparado aos homens e maior frequência de DVA grave.
- Existe uma correlação direta entre a concentração de AR e o retinol.
- Existe uma correlação inversa entre o AR e o TGO.
- Existe uma correlação inversa entre a razão retinol/ácido retinoico e a TGP e forte tendência para correlação inversa com a bilirrubina indireta.

A partir dessas considerações, as recomendações do estudo são:

- Realização de novas pesquisas para definir valores de referência para o AR.
- Rastrear as concentrações séricas de ácido retinoico em todos os estágios da cirrose hepática, incluindo pacientes Chil A, B e C e carcinoma hepatocelular.

8. REFERÊNCIAS

- ABDELHAMID, L.; LUO, X. Retinoic Acid, Leaky Gut, and Autoimmune Diseases. **Nutrients**, v. 10, n. 8, p. 1016, 3 ago. 2018.
- AGUILAR, R. P. et al. Vitamin A deficiency injures liver parenchyma and alters the expression of hepatic extracellular matrix. **Journal of Applied Toxicology**, v. 29, n. 3, p. 214–222, abr. 2009.
- AL TANOURY, Z.; PISKUNOV, A.; ROCHETTE-EGLY, C. Vitamin A and retinoid signaling: genomic and nongenomic effects: Thematic Review Series: Fat-Soluble Vitamins: Vitamin A. **Journal of Lipid Research**, v. 54, n. 7, p. 1761–1775, jul. 2013.
- ALTAMIRANO-BARRERA, A.; BARRANCO-FRAGOSO, B.; MÉNDEZ-SÁNCHEZ, N. [u]/u Management strategies for liver fibrosis. **Annals of Hepatology**, v. 16, n. 1, p. 48–56, 1 jan. 2017.
- ARSLAN, N. Obesity, fatty liver disease and intestinal microbiota. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 44, p. 16452, 2014.
- ASHLA, A. A. et al. Genetic analysis of expression profile involved in retinoid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease: Genetics of retinod metabolism in NAFLD. **Hepatology Research**, v. 40, n. 6, p. 594–604, 25 maio 2010.
- ASRANI, S. K. et al. Burden of liver diseases in the world. **Journal of Hepatology**, v. 70, n. 1, p. 151–171, jan. 2019.
- BAENA, R. et al. Vitamin A, retinol binding protein and lipids in type 1 diabetes mellitus. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 1, p. 44–50, jan. 2002.
- BARBER, T. et al. Vitamin A Deficiency and Alterations in the Extracellular Matrix. **Nutrients**, v. 6, n. 11, p. 4984–5017, 10 nov. 2014.
- BECKWITT, C. H. et al. Liver ‘organ on a chip’. **Experimental Cell Research**, v. 363, n. 1, p. 15–25, fev. 2018.

- BERRY, D. C.; NOY, N. All-trans-Retinoic Acid Represses Obesity and Insulin Resistance by Activating both Peroxisome Proliferation-Activated Receptor / and Retinoic Acid Receptor. **Molecular and Cellular Biology**, v. 29, n. 12, p. 3286–3296, 15 jun. 2009.
- BERTOLA, A. et al. Identification of Adipose Tissue Dendritic Cells Correlated With Obesity-Associated Insulin-Resistance and Inducing Th17 Responses in Mice and Patients. **Diabetes**, v. 61, n. 9, p. 2238–2247, 1 set. 2012.
- BLANER, W. S. et al. Hepatic stellate cell lipid droplets: A specialized lipid droplet for retinoid storage. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1791, n. 6, p. 467–473, jun. 2009.
- BLOMHOFF, R.; BLOMHOFF, H. K. Overview of retinoid metabolism and function. **Journal of Neurobiology**, v. 66, n. 7, p. 606–630, jun. 2006.
- BORKHAM-KAMPHORST, E. et al. Pro-fibrogenic potential of PDGF-D in liver fibrosis. **Journal of Hepatology**, v. 46, n. 6, p. 1064–1074, jun. 2007.
- BOTELLA-CARRETERO, J. I. et al. Retinol and α -Tocopherol in Morbid Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Obesity Surgery**, v. 20, n. 1, p. 69–76, jan. 2010.
- BRUCK, N. et al. A coordinated phosphorylation cascade initiated by p38MAPK/MSK1 directs RAR α to target promoters. **The EMBO Journal**, v. 28, n. 1, p. 34–47, 7 jan. 2009.
- CAMPO, J. A. D.; GALLEGO, P.; GRANDE, L. Role of inflammatory response in liver diseases: Therapeutic strategies. **World Journal of Hepatology**, v. 10, n. 1, p. 1–7, 27 jan. 2018.
- CHARLTON, M. R. et al. Frequency and Outcomes of Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States. **Gastroenterology**, v. 141, n. 4, p. 1249–1253, out. 2011.
- CHAVES, G. V. et al. Associação entre doença hepática gordurosa não alcoólica e marcadores de lesão/função hepática com componentes da síndrome metabólica em indivíduos obesos classe III. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 288–293, jun. 2012.

CHAVES, G. V. et al. Association Between Liver Vitamin A Reserves and Severity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the Class III Obese Following Bariatric Surgery. **Obesity Surgery**, v. 24, n. 2, p. 219–224, fev. 2014.

CHEN, L. et al. HSCs play a distinct role in different phases of oval cell-mediated liver regeneration: HSCS PLAY A DISTINCT ROLE IN DIFFERENT PHASES. **Cell Biochemistry and Function**, v. 30, n. 7, p. 588–596, out. 2012.

CICHOŹ-LACH, H. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 25, p. 8082, 2014.

CLAVIEN, P.-A. et al. Strategies for Safer Liver Surgery and Partial Liver Transplantation. **New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 15, p. 1545–1559, 12 abr. 2007.

CLEMENTE, C. et al. Serum retinol and risk of hepatocellular carcinoma in patients with child-Pugh class A cirrhosis. **Cancer Letters**, v. 178, n. 2, p. 123–129, 25 abr. 2002.

COOKE, G. S. et al. **Viral hepatitis and the Global Burden of Disease: a need to regroup.** **Journal of Viral Hepatitis**, v. 20, n. 9, p. 600–601, set. 2013.

COSTA, E. R. **Desenvolvimento e validação de método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em seqüência para quantificação simultânea de retinol e ácido retinóico em pacientes com doença hepática crônica.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)—Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

COTRIM, H. P. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. **Annals of Hepatology**, v. 10, n. 1, p. 33–37, mar. 2011.

DE PAULA, T. P.; RAMALHO, A.; BRAULIO, V. B. The effectiveness of relative dose response to retinol intake as an evaluation of vitamin A status of cirrhotic patients: Vitamin A status and liver cirrhosis. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 23, n. 6, p. 583–589, dez. 2010.

- DEJMEK, J. et al. Wnt-5a and G-protein signaling are required for collagen-induced DDR1 receptor activation and normal mammary cell adhesion: Wnt-5a and Mammary Cell Adhesion. **International Journal of Cancer**, v. 103, n. 3, p. 344–351, 20 jan. 2003.
- DELEVE, L. D. Liver sinusoidal endothelial cells and liver regeneration. **Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 5, p. 1861–1866, 1 maio 2013.
- DOOLEY, S.; TEN DIJKE, P. TGF- β in progression of liver disease. **Cell and Tissue Research**, v. 347, n. 1, p. 245–256, jan. 2012.
- DUSSEAUX, M. et al. Human MAIT cells are xenobiotic-resistant, tissue-targeted, CD161hi IL-17-secreting T cells. **Blood**, v. 117, n. 4, p. 1250–1259, 27 jan. 2011.
- FABBRINI, E.; MAGKOS, F. Hepatic Steatosis as a Marker of Metabolic Dysfunction. **Nutrients**, v. 7, n. 6, p. 4995–5019, 19 jun. 2015.
- FRISANCHO, A. R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, n. 11, p. 2540–2545, nov. 1981.
- FU, H.-L. et al. Discoidin Domain Receptors: Unique Receptor Tyrosine Kinases in Collagen-mediated Signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 11, p. 7430–7437, 15 mar. 2013.
- GE, J. et al. Implication of Th17 and Th1 Cells in Patients with Chronic Active Hepatitis B. **Journal of Clinical Immunology**, v. 30, n. 1, p. 60–67, jan. 2010.
- GEERTS, A. History, Heterogeneity, Developmental Biology, and Functions of Quiescent Hepatic Stellate Cells. **Seminars in Liver Disease**, v. 21, n. 03, p. 311–336, 2001.
- GOUBIER, A. et al. Plasmacytoid Dendritic Cells Mediate Oral Tolerance. **Immunity**, v. 29, n. 3, p. 464–475, set. 2008.
- HELLERBRAND, C. Hepatic stellate cells—the pericytes in the liver. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 465, n. 6, p. 775–778, jun. 2013.
- HUANG, X.; LIU, X.; YU, Y. Depression and Chronic Liver Diseases: Are There Shared Underlying Mechanisms? **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 10, 8 maio 2017.

HUANG, Z. et al. Role of Vitamin A in the Immune System. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n. 9, p. 258, 6 set. 2018.

ICHIKAWA, S. et al. Hepatic Stellate Cells Function as Regulatory Bystanders. **The Journal of Immunology**, v. 186, n. 10, p. 5549–5555, 15 maio 2011.

IREDALE, J. P.; THOMPSON, A.; HENDERSON, N. C. Extracellular matrix degradation in liver fibrosis: Biochemistry and regulation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1832, n. 7, p. 876–883, jul. 2013.

JACOB, K. A. et al. Mortality after cardiac surgery in patients with liver cirrhosis classified by the Child-Pugh score. **Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery**, v. 20, n. 4, p. 520–530, abr. 2015.

JEFFERY, H. C. et al. Biliary epithelium and liver B cells exposed to bacteria activate intrahepatic MAIT cells through MR1. **Journal of Hepatology**, v. 64, n. 5, p. 1118–1127, maio 2016.

JIAO, J. et al. Dendritic cell regulation of carbon tetrachloride-induced murine liver fibrosis regression. **Hepatology**, v. 55, n. 1, p. 244–255, jan. 2012.

KAMBHAMPATI, S. et al. Activation of Protein Kinase C δ by All- *trans* -retinoic Acid. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 35, p. 32544–32551, 29 ago. 2003.

KIM, H.-G. et al. DDR1 Receptor Tyrosine Kinase Promotes Prosurvival Pathway through Notch1 Activation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 20, p. 17672–17681, 20 maio 2011.

KISSELEVA, T. The origin of fibrogenic myofibroblasts in fibrotic liver: Kisseleva. **Hepatology**, v. 65, n. 3, p. 1039–1043, mar. 2017.

KOYAMA, Y.; BRENNER, D. A. Liver inflammation and fibrosis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 1, p. 55–64, 3 jan. 2017.

KWON, Y. J.; LEE, K. G.; CHOI, D. Clinical implications of advances in liver regeneration. **Clinical and Molecular Hepatology**, v. 21, n. 1, p. 7, 2015.

- LABRECQUE, D. R. et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. **Journal of Clinical Gastroenterology**, p. 1, jun. 2014.
- LAMPEN, A.; MEYER, S.; NAU, H. Effects of receptor-selective retinoids on CYP26 gene expression and metabolism of all-trans-retinoic acid in intestinal cells. **Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals**, v. 29, n. 5, p. 742–747, maio 2001.
- LAVANCHY, D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 2, p. 107–115, fev. 2011.
- LEBBINK, R. J. et al. Collagens are functional, high affinity ligands for the inhibitory immune receptor LAIR-1. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 203, n. 6, p. 1419–1425, 12 jun. 2006.
- LEE, Y.-S.; JEONG, W.-I. Retinoic acids and hepatic stellate cells in liver disease: Retinoic acids in liver disease. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 27, p. 75–79, mar. 2012.
- LEMMERS, A. et al. The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. **Hepatology**, v. 49, n. 2, p. 646–657, fev. 2009.
- LI, S. et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 11, p. 26087–26124, 2 nov. 2015.
- LIANG, W. et al. Metabolically induced liver inflammation leads to NASH and differs from LPS- or IL-1 β -induced chronic inflammation. **Laboratory Investigation**, v. 94, n. 5, p. 491–502, maio 2014.
- LIU, Y. et al. Association of serum retinoic acid with hepatic steatosis and liver injury in nonalcoholic fatty liver disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, n. 1, p. 130–137, 1 jul. 2015.
- LUEDDE, T.; KAPLOWITZ, N.; SCHWABE, R. F. Cell Death and Cell Death Responses in Liver Disease: Mechanisms and Clinical Relevance. **Gastroenterology**, v. 147, n. 4, p. 765–783.e4, out. 2014.

MAGALHAES, I. et al. Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 4, p. 1752–1762, 1 abr. 2015.

MALIK, M.; WEBB, J.; CATHERINO, W. H. Retinoic acid treatment of human leiomyoma cells transformed the cell phenotype to one strongly resembling myometrial cells. **Clinical Endocrinology**, v. 69, n. 3, p. 462–470, set. 2008.

MAO, S. A.; GLORIOSO, J. M.; NYBERG, S. L. Liver regeneration. **Translational Research**, v. 163, n. 4, p. 352–362, abr. 2014.

MARLÉTAZ, F. et al. Retinoic acid signaling and the evolution of chordates. **International Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 2, p. 38–47, 2006.

MASIÁ, S. et al. Rapid, Nongenomic Actions of Retinoic Acid on Phosphatidylinositol-3-Kinase Signaling Pathway Mediated by the Retinoic Acid Receptor. **Molecular Endocrinology**, v. 21, n. 10, p. 2391–2402, out. 2007.

MCCARROLL, J. A. Vitamin A inhibits pancreatic stellate cell activation: implications for treatment of pancreatic fibrosis. **Gut**, v. 55, n. 1, p. 79–89, 1 jan. 2006.

MCDONALD, B. et al. Interaction of CD44 and hyaluronan is the dominant mechanism for neutrophil sequestration in inflamed liver sinusoids. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 205, n. 4, p. 915–927, 14 abr. 2008.

MENG, F. et al. Interleukin-17 Signaling in Inflammatory, Kupffer Cells, and Hepatic Stellate Cells Exacerbates Liver Fibrosis in Mice. **Gastroenterology**, v. 143, n. 3, p. 765–776.e3, set. 2012.

MEYAARD, L. LAIR and collagens in immune regulation. **Immunology Letters**, v. 128, n. 1, p. 26–28, jan. 2010.

MILIC, S.; ŠTIMAC, D. Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Steatohepatitis: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Presentation and Treatment. **Digestive Diseases**, v. 30, n. 2, p. 158–162, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais. v. V, n. 01, 2017.

MOHD HANAFIAH, K. et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. **Hepatology**, v. 57, n. 4, p. 1333–1342, abr. 2013.

MORMONE, E.; GEORGE, J.; NIETO, N. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches. **Chemico-Biological Interactions**, v. 193, n. 3, p. 225–231, set. 2011.

NEWSOME, P. N. et al. Low serum retinol levels are associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 14, n. 10, p. 1295–1301, out. 2000.

NOYAN, S.; CAVUSOGLU, I.; ZEHRA MINBAY, F. The effect of vitamin A on CCl₄-induced hepatic injuries in rats: a histochemical, immunohistochemical and ultrastructural study. **Acta Histochemica**, v. 107, n. 6, p. 421–434, fev. 2006.

OKUNO, M. et al. Retinoids exacerbate rat liver fibrosis by inducing the activation of latent TGF- β in liver stellate cells. **Hepatology**, v. 26, n. 4, p. 913–921, out. 1997.

OLIVEIRA, M. R. D. The neurotoxic effects of vitamin A and retinoids. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2 suppl, p. 1361–1373, 4 ago. 2015.

PERES, W. A. F. et al. Vitamin A deficiency in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 11, p. 1724–1731, dez. 2011.

PETKOVICH, P. M. Retinoic acid metabolism. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 45, n. 5, p. S136-142, nov. 2001.

PETRUZZIELLO, A. et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. **World Journal of Gastroenterology**, v. 22, n. 34, p. 7824, 2016.

PORTUGAL, F. B. et al. Carga de doença no Brasil: um olhar sobre o álcool e a cirrose não viral. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 2, p. 491–501, fev. 2015.

PUGH, R. N. H. et al. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. **British Journal of Surgery**, v. 60, n. 8, p. 646–649, ago. 1973.

RAU, M. et al. Progression from Nonalcoholic Fatty Liver to Nonalcoholic Steatohepatitis Is Marked by a Higher Frequency of Th17 Cells in the Liver and an Increased Th17/Resting Regulatory T Cell Ratio in Peripheral Blood and in the Liver. **The Journal of Immunology**, v. 196, n. 1, p. 97–105, 1 jan. 2016.

REHM, J. et al. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. **The Lancet**, v. 373, n. 9682, p. 2223–2233, jun. 2009.

REHM, J. et al. Alcohol as a risk factor for liver cirrhosis: A systematic review and meta-analysis: Alcohol and liver cirrhosis. **Drug and Alcohol Review**, v. 29, n. 4, p. 437–445, 18 jan. 2010.

REHM, J.; SAMOKHVALOV, A. V.; SHIELD, K. D. Global burden of alcoholic liver diseases. **Journal of Hepatology**, v. 59, n. 1, p. 160–168, jul. 2013.

RICE, J. P. et al. Abusive drinking after liver transplantation is associated with allograft loss and advanced allograft fibrosis: Alcoholic Liver Disease After Liver Transplantation. **Liver Transplantation**, v. 19, n. 12, p. 1377–1386, dez. 2013.

SAEED, A. et al. Disturbed Vitamin A Metabolism in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). **Nutrients**, v. 10, n. 1, p. 29, 29 dez. 2017.

SHIRAKAMI, Y. et al. Hepatic metabolism of retinoids and disease associations. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1821, n. 1, p. 124–136, jan. 2012.

SINGAL, A. K. et al. Evolving Frequency and Outcomes of Liver Transplantation Based on Etiology of Liver Disease: **Transplantation Journal**, v. 95, n. 5, p. 755–760, mar. 2013.

STEPANOVA, M. et al. The Portrait of an Adult Liver Transplant Recipient in the United States From 1987 to 2013. **JAMA Internal Medicine**, v. 174, n. 8, p. 1407, 1 ago. 2014.

SU, L. et al. Intestinal immune barrier integrity in rats with nonalcoholic hepatic steatosis and steatohepatitis. **Chinese Medical Journal**, v. 125, n. 2, p. 306–311, jan. 2012.

- TACKE, F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. **Journal of Hepatology**, v. 66, n. 6, p. 1300–1312, jun. 2017.
- TANUMIHARDJO, S. A. et al. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—Vitamin A Review. **The Journal of Nutrition**, v. 146, n. 9, p. 1816S-1848S, set. 2016.
- THOMAS, R. J. et al. The Effect of Three-Dimensional Co-Culture of Hepatocytes and Hepatic Stellate Cells on Key Hepatocyte Functions in vitro. **Cells Tissues Organs**, v. 181, n. 2, p. 67–79, 2005.
- TOKITA, D. et al. Poor allostimulatory function of liver plasmacytoid DC is associated with pro-apoptotic activity, dependent on regulatory T cells. **Journal of Hepatology**, v. 49, n. 6, p. 1008–1018, dez. 2008.
- TSIAOUSI, E. T. et al. Malnutrition in end stage liver disease: recommendations and nutritional support. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 23, n. 4, p. 527–533, abr. 2008.
- TSOCHATZIS, E. A.; BOSCH, J.; BURROUGHS, A. K. Liver cirrhosis. **The Lancet**, v. 383, n. 9930, p. 1749–1761, maio 2014.
- UKLEJA, A. et al. Nutritional assessment of serum and hepatic vitamin A levels in patients with cirrhosis. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 26, n. 3, p. 184–188, maio 2002.
- VARGAS, J. I. et al. Use of Statins in Patients with Chronic Liver Disease and Cirrhosis: Current Views and Prospects. **Current Gastroenterology Reports**, v. 19, n. 9, set. 2017.
- WAN, J. et al. M2 Kupffer cells promote M1 Kupffer cell apoptosis: A protective mechanism against alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease: *Hepatology*, Vol. 00, No. X, 2013 Wan et al. **Hepatology**, v. 59, n. 1, p. 130–142, jan. 2014.
- WASLEY, A.; ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. **Seminars in Liver Disease**, v. 20, n. 1, p. 1–16, 2000.
- WATSON, S. P.; HERBERT, J. M. J.; POLLITT, A. Y. GPVI and CLEC-2 in hemostasis and vascular integrity: ITAM and hemITAM receptors in platelets. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 8, n. 7, p. 1456–1467, 25 mar. 2010.

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION. World Gastroenterology Organisation global guideline: hepatitis B. **WGO**, 2015.

XIAO, R. et al. Retinoic acids exhibit anti-fibrotic activity through the inhibition of 5-lipoxygenase expression in scleroderma fibroblasts: Retinoic acids exhibit anti-fibrotic activity. **The Journal of Dermatology**, v. 38, n. 4, p. 345–353, abr. 2011.

YE, Y.; DAN, Z. All-trans retinoic acid diminishes collagen production in a hepatic stellate cell line via suppression of active protein-1 and c-Jun N-terminal kinase signal. **Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]**, v. 30, n. 6, p. 726–733, dez. 2010.

YOUNOSSI, Z. M. et al. Diagnostic Modalities for Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD), Non-alcoholic Steatohepatitis (NASH) and Associated Fibrosis. **Hepatology**, 9 dez. 2017.

ZHANG, K.-H.; YU, Q.-Z.; MO, X.-M. Fabrication and Intermolecular Interactions of Silk Fibroin/Hydroxybutyl Chitosan Blended Nanofibers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 4, p. 2187–2199, 30 mar. 2011.

ZHAO, Q. et al. Rapid induction of cAMP/PKA pathway during retinoic acid-induced acute promyelocytic leukemia cell differentiation. **Leukemia**, v. 18, n. 2, p. 285–292, fev. 2004.

ZHOU, T.-B.; DRUMMEN, G.; QIN, Y.-H. The Controversial Role of Retinoic Acid in Fibrotic Diseases: Analysis of Involved Signaling Pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 1, p. 226–243, 21 dez. 2012.

ZOUBEK, M. E.; TRAUTWEIN, C.; STRNAD, P. Reversal of liver fibrosis: From fiction to reality. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 31, n. 2, p. 129–141, abr. 2017.

9. APÊNDICES

APÊNDICE 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

NÚCLEO DE PESQUISA EM MICRONUTRIENTES

Pesquisa: “Adaptação do Teste de avaliação indireta da reserva hepática de retinol para diagnóstico do estado nutricional de Vitamina A em pacientes com cirrose hepática e carcinoma hepatocelular”

Entrevistador: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A doença hepática pode levar a desnutrição e deficiência de vitamina A. Essa deficiência pode ser tratada sob orientação do nutricionista ou médico especialista.

Para saber se você apresenta esta deficiência, estamos realizando uma pesquisa denominada “Adaptação do teste de resposta relativa à dose para diagnóstico do estado nutricional de vitamina a em pacientes com cirrose hepática e carcinoma hepatocelular”, para a qual solicitamos o seu consentimento.

É importante que no dia marcado você compareça em jejum de 12 horas ao Hospital para coleta de sangue, recebendo em seguida um desjejum e uma dose de 1500 ou 2500 UI de vitamina A. Após 5 e/ou 7 horas será realizada nova coleta de sangue. A dose suplementar de Vitamina A não oferece riscos de toxicidade, devido à administração de pequena dosagem e não apresenta efeito colateral.

Suas medidas corporais serão avaliadas. Qualquer dúvida poderá ser esclarecida pelo telefone 2543-7172/93170281 com a Pesquisadora Gabriela Chaves. Os resultados estarão disponíveis aos participantes.

Se você concorda em participar, por favor, assine o Termo de Consentimento abaixo:

Eu, abaixo assinado, dou meu consentimento livre e esclarecido para participar do Projeto de Pesquisa descrito acima, tendo recebido uma cópia deste termo de consentimento. Declaro, também, que tive oportunidade de questionar maiores detalhes sobre o estudo e que estou ciente de que meus dados permanecerão confidenciais e que não receberei nenhuma ajuda de custo pela minha participação. Assinando este termo, autorizo minha participação voluntária neste projeto, do qual eu posso me retirar a qualquer momento, sem penalidades, perda de benefícios ou tratamento que eu tenha direito.

NOME:.....

ASSINATURA:.....

PESQUISADOR:.....

APÊNDICE 2: Instrumento de Coleta de Dados 1

1 – IDENTIFICAÇÃO: Grupo Controle Grupo 1 Grupo 2

Nome: _____

Endereço: _____

Prontuário: _____ Data: ____/____/____

Telefone: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: ____ Sexo M F

Profissão: _____ Escolaridade: _____

2 – DIAGNÓSTICO:

Cirrose A Cirrose B Cirrose C CHC

2.1– Doenças Associadas: _____

2.2 – Fármacos em Uso: _____

3 – CHILD-PUGH:

Ascite: Ausente Ausente, controlada c/ diuréticos Presente (facilmente detectável)

Presença de edema: _____

Encefalopatia: Ausente Leve Moderada a Severa

3.1 – PONTUAÇÃO P/ GRAU DE GRAVIDADE DA DOENÇA HEPÁTICA (Pugh et al., 1973):

4 - ANAMNESE

4.1 - Complicações:

4.2-Varizes esofageanas: ()Sim ()Não **5.2- Sangramento:**()Sim ()Não n° de vezes: _____

4.3. Suplementação protéica/calórica em uso: _____

4.4.Suplementação vitamínica/mineral em uso: _____

4.5 -Faz dieta ou alguma restrição alimentar? ()Sim ()Não Qual tipo? _____

6 - Fazia uso de bebida alcoólica antes de ficar doente? ()Sim ()Não

VI-BÍOQUÍMICA:

Alfa fetoproteína	
Fosfatase alcalina	
Alanina aminotransferase (TGP)	
Aspartatoaminotransferase (TGO) (AST)	
Gama GT	
Albumina	
Tempo de protrombina	Cliente: Controle: Atividade: INR:
Bilirrubina	Total(0,0-1,0): Direta: Indireta:

Resultados:**Retinol:** _____**Ácido retinoico:** _____**Razão retinol/ácido retinoico:** _____**V - ANTROPOMETRIA:**

DADOS ANTROPOMÉTRICOS	VALORES
Peso	
Altura	
Circunferência do braço	
Circunferência Muscular braquial	
Prega Cutânea Tricipital	

APÊNDICE 3: Instrumento de Coleta de Dados 2

Nome: _____	Nº prontuário: _____
DN: ____ / ____ / ____	Idade: _____


EVOLUÇÃO MÉDICA	
Diagnóstico: <input type="checkbox"/> Cirrose A <input type="checkbox"/> Cirrose B <input type="checkbox"/> Cirrose C <input type="checkbox"/> CHC	
Ascite: <input type="checkbox"/> Ausente <input type="checkbox"/> Ausente, controlada c/ diuréticos <input type="checkbox"/> Presença de edema Nível: ____	
Uso de lactulona: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Encefalopatia: <input type="checkbox"/> Ausente <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada a Severa	
Varizes esofageanas: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Sangramento: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não N° de vezes: ____	
Diálise: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não N° de vezes: ____ / semana	

EXAMES BIOQUÍMICOS			
Alfa fetoproteína:		Bilirrubina:	
Fosfatase alcalina:		Total:	
TGP:		Direta:	
TGO:		Indireta:	
Gama GT:		Tempo de protombrina:	
Albumina:		Cliente:	
Creatinina:		Controle:	
Sódio:		Atividade:	
		INR:	

CÁLCULOS	
MELD:	Creatinina sérica / bilirrubina total / INR / dialise (2x por semana) / sódio
CHILD:	Bilirrubina total / albumina / INR / ascite (gravidade) / encefalopatia (grau)

10. ANEXOS

ANEXO 1: Aprovação do Projeto de Pesquisa no Comitê de Ética


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

CEP - MEMO - nº 431/01 Rio de Janeiro, 20 de julho de 2001

Do : Secretário do CEP

A(o) : Sr.(a) Pesquisador(a) : Prof. Wilza Arantes Ferreira Peres

Assunto: Parecer sobre Projeto de Pesquisa

Sr.(a) Pesquisador(a)
 Informo a V. S.^a que o CEP constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao Protocolo de Pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa n.º 068//01 - CEP

Título do Projeto: "Relação entre função hepática e estado nutricional da vitamina A em pacientes portadores de hepatite, cirrose e carcinoma hepatocelular por virus C"

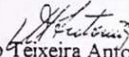
Pesquisador responsável: Prof. Wilza Arantes Ferreira Peres

Data de apreciação do parecer: 19/07/01

Relator(a) do parecer: Prof. Luiz Carlos Duarte de Miranda

Parecer: **APROVADO**

Informo ainda, que V. Sa. deverá apresentar relatório anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII.13.d., da Resolução n.º 196/96 - CNS/MS).

Atenciosamente,

 Mário Teixeira Antonio
 Secretário do CEP

Coordenador:
 Dr. Francisco Ribeiro de Oliveira
 Médico - Prof. Titular

Secretário:
 Dr. Mário Teixeira Antonio
 Farmacologista - Especialista

Membros Titulares:
 Dr. Adriano de Magalhães Maranhão
 Farmacologista - Mestre
 Dr. Celso Carvalho Siqueira Eira
 Médico - Prof. Titular
 Dra. Regina Antunes
 Assessoria Social - Mestre
 Dr. João Antônio Rocha
 Aluno de Grad. da Fac. de Medicina
 Dra. Lúcia Maria Cardozo Charroff
 Médico - Prof. Titular
 Dr. Luiz Fernando Fernandes Gonçalves
 Médico - Doutorando
 Dra. Maria Grillo Cabral
 Odontólogo - Prof. Assistente
 Membro de Honra do A. Saranira
 Representante dos Usuários
 Dr. Maurício Borges Vincent
 Médico - Prof. Adjunto
 Nelson Jamel
 Médico - Prof. Titular
 Dra. Regina Célia Cordeiro
 Farmacologista - Especialista
 Membros Suplentes:
 Dra. Teresinha Pague Carvalho
 Médico - Doutorando
 Dr. Milton Luiz Natividade de Castro
 Médico - Prof. Adjunto
 Dr. João Freire Vaz
 Aluno de Graduação da Fac. de Medicina
 Dr. Carlos Oliveira de Moraes
 Médico - Prof. Adjunto
 Dra. Virginia Bloch
 Médico - Prof. Adjunto
 Dra. Verônica R. de Souza Barbosa
 Farmacologista
 Dr. Carlos Duarte de Miranda
 Médico - Prof. Adjunto
 Dra. Sônia de Miranda
 Farmacologista - Prof. Assistente
 Dra. Marlene Maria Santiago Rêgo
 Farmacologista - Prof. Assistente
 Dra. Patrícia Gustavo Lopes
 Representante dos Usuários
 Dra. Teresinha de Castro Nogueira
 Farmacologista - Especialista
 Dra. Valéria
 Médico - Prof. Adjunto
 Dra. Maria de Souza Ribeiro
 Assessoria Social