

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM
BIOCIÊNCIAS E SAÚDE
NÍVEL MESTRADO

CLAUDIA EMANUELLI EBERTZ

**EFEITO DA CIRURGIA DE DERIVAÇÃO DUODENO-JEJUNAL SOBRE A
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA EM RATOS OBESOS
POR DIETA DE CAFETERIA**

Cascavel – PR, 2013

CLAUDIA EMANUELLI EBERTZ

**EFEITO DA CIRURGIA DE DERIVAÇÃO DUODENO-JEJUNAL SOBRE A
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA EM RATOS OBESOS
POR DIETA DE CAFETERIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biociências e Saúde – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

Área de Concentração: Biologia, processo saúde-doença e políticas de saúde.

Orientadora: Prof^a Dra. Sandra Lucinei Balbo.
Co-orientadora: Prof^a Dra. Elaine Manoela Porto Amorim.

Cascavel – PR, dezembro, 2013

CLAUDIA EMANUELLI EBERTZ

**EFEITO DA CIRURGIA DE DERIVAÇÃO DUODENO-JEJUNAL SOBRE A
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA EM RATOS OBESOS
POR DIETA DE CAFETERIA**

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Sandra Lucinei Balbo
Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Orientadora

Prof^ª. Dra. Célia Cristina Leme Beu
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes
Universidade Federal do Maranhão

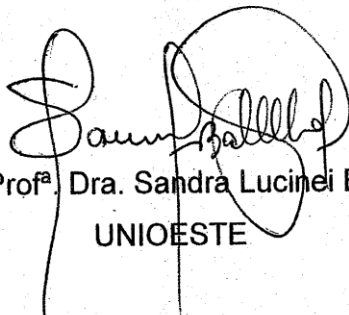
Cascavel, 17 de dezembro de 2013

FOLHA DE APROVAÇÃO

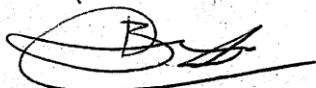
CLÁUDIA EMANUELLI EBERTZ

**EFEITO DA CIRURGIA DE DERIVAÇÃO DUODENO JEJUNAL
SOBRE A DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA EM
RATOS OBESOS POR DIETA DE CAFETERIA**

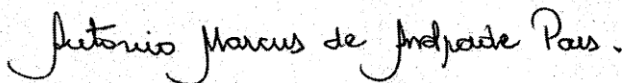
Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.



Orientador: Prof^a. Dra. Sandra Lucinei Balbo
UNIOESTE



Prof^a. Dra. Célia Cristina Leme Beu
UNIOESTE



Prof. Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes
UFMA

CASCABEL-PR
(dezembro/2013)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem ele tudo torna-se nada.

A Eloisa, Vair e Carolina Ebertz e Lucas Katsui Utsunomia pelo carinho, apoio, auxílio, conforto e incentivo, acompanhando-me nas diversas etapas envolvidas na elaboração dessa dissertação.

As Professoras Doutoras Sandra Lucinei Balbo, Elaine Manoela Porto Amorim e Maria Lúcia Bonfleur pela contribuição no meu crescimento acadêmico, orientação e por serem inspiração de docentes e pesquisadoras.

Aos professores, técnicos, alunos de pós-graduação e graduação dos laboratórios de Histologia, Bioquímica e Biologia Estrutural e Funcional da UNIOESTE, bem como a equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário do Oeste do Paraná, em especial a farmacêutica Adriana Damásio e ao coordenador do laboratório, Rafael A. Menolli.

Agradecimento especial aos professores José Luis da Conceição Silva e Paulino Yassuda Filho pelas contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabolismo (LAFEM) pelo convívio, realização das atividades diárias e cuidados com os animais, experimentos e conversas científicas.

Aos amigos, especialmente a Ilha, pela compreensão da ausência em certos momentos, pelas conversas acadêmicas e também pelos momentos de descontração.

RESUMO

Introdução: Cirurgias bariátricas reduzem a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), a qual está associada a comorbidades da síndrome metabólica, entretanto, os efeitos da derivação duodeno-jejunal (DDJ) não foram investigados. Este estudo tem por objetivo avaliar os efeitos da DDJ no perfil sérico e hepático de ratos obesos submetidos à dieta de cafeteria.

Métodos: Ratos Wistar foram alimentados com ração padrão para roedores (grupo CTL) ou dieta de cafeteria (grupo CAF) *ad libitum*. Após 10 semanas de dieta, os animais do grupo CAF foram submetidos à falsa cirurgia (CAF FO) ou à derivação duodeno-jejunal (CAF DDJ). O peso corporal, peso dos depósitos de gorduras, glicemia, insulinemia, HOMA-IR, índice TyG, perfil lipídico e análises hepáticas foram avaliados dois meses após a cirurgia.

Resultados: O grupo CAF FC apresentou obesidade, hiperglicemia, hiperinsulinemia, resistência à insulina, hipertrigliceridemia e esteatose hepática em relação ao grupo CTL. Os animais CAF DDJ apresentaram diminuição da glicose sérica e resistência à insulina, sem alterações na insulinemia, quando comparados aos animais CAF FC. Além disso, a DDJ normalizou a concentração sérica de triglicérides e atenuou o acúmulo hepático de triglicérides, bem como a esteatose hepática no grupo CAF DDJ. A expressão proteica de ACC e FAS hepáticas foram similares nos três grupos.

Conclusões: A DDJ atenuou os parâmetros hepáticos da DHGNA em ratos obesos por dieta de cafeteria.

Palavras-chave: cirurgia de derivação duodeno-jejunal, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), obesidade, dieta de cafeteria.

ABSTRACT

Purpose: Bariatric surgeries reduce non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), which is associated with metabolic syndrome co-morbidities; however, the effects of duodenal-jejunal bypass (DJB) have not been investigated. This study aimed to evaluate the effects of DJB on serum and hepatic profiles of obese rats fed on a western diet (WD).

Methods: Male *Wistar* rats were fed a standard rodent chow diet (CTL group) or WD *ad libitum*. After 10 weeks, WD rats were submitted to sham (WD SHAM) or duodenal-jejunal bypass (WD DJB). Body weight, fat pad depots, glycemia, insulinemia, HOMA-IR, TyG, lipids profile and hepatic analyses were evaluated two months after surgery.

Results: The WD SHAM group presented greater obesity, hyperglycemia, hyperinsulinemia, insulin resistance, hypertriglyceridemia and hepatic steatosis than the CTL group. WD DJB rats presented decreased serum glucose and insulin resistance, when compared to WD SHAM animals, without changes in insulinemia. In addition, DJB surgery normalized serum TG and attenuated TG accumulation and steatosis in the liver of the WD DJB group. Hepatic ACC and FAS protein expressions were similar in all groups.

Conclusions: DJB attenuates hepatic parameters of NAFLD in obese rats fed on a WD diet.

Key words: Duodenal-jejunal bypass surgery; Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD); Obesity; Western diet rats.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α -SMA	<i>alpha smooth muscle</i>
ACC	acetil-CoA carboxilase
AG	ácidos graxos
AGL	ácidos graxos livres
ALT	alanina aminotransferase
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
apoB	apolipoproteína B
AST	aspartato aminotransferase
AUC	<i>area under curve</i>
ATP	adenosina trifosfato
CAF	grupo submetido à dieta de cafeteria
CAF DDJ	grupo submetido à dieta de cafeteria e derivação duodeno-jejunal
CAF FC	grupo submetido à dieta de cafeteria e falsa cirurgia
CEEAAP	Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas
CEUA	<i>Committee for Ethics in Animal Experimentation</i>
COL	colesterol
CHOL	<i>cholesterol</i>
CONCEA	<i>National Council for Control of Animal Experimentation</i>
CTL	grupo controle
DDJ	derivação duodeno-jejunal
DHGNA	doença hepática gordurosa não alcoólica
DJB	<i>duodenal-jejunal bypass</i>
DJBL	<i>duodenal-jejunal bypass liner</i>
DM	diabetes mellitus
DM2	diabetes mellitus tipo 2
DNL	<i>de novo</i> lipogênese
EHNA	esteato-hepatite não alcoólica
EUA	Estados Unidos da América
FAS	ácido graxo sintase

HCC	<i>hepatocellular carcinoma</i>
H&E	<i>hematoxicilin and eosin</i>
HDL	lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metil coenzima A
HOMA	<i>homeostasis model assessment</i>
HOMA-IR	<i>homeostasis model assessment of insulin resistance</i>
IL-6	interleucina 6
IMC	índice de massa corporal
LDL	lipoproteína de baixa densidade
LETO	<i>Long-Evans Tokushima Otsuka</i>
MCD	deficiente em metionina e colina
NADH	nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NAFLD	<i>non alcoholic fatty liver disease</i>
NASH	<i>non-alcoholic steatohepatitis</i>
OLETF	<i>Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PR	Paraná
RI	resistência à insulina
ROS	espécies reativas de oxigênio
SM	síndrome metabólica
SEM	<i>standard error median</i>
SOS	<i>Swedish Obese Subjects</i>
SREBP	<i>sterol regualtory alement binding protein</i>
SREBP-1c	<i>sterol regualtory alement binding protein-1c</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TG	triglicérides
TNF- α	fator de necrose tumoral α
TGF- β	<i>transforming growth factor β</i>
TyG index	índice calculado pelo produto de triglicérides por glicose de jejum
UNIOESTE	Universidade Estadual do Oeste do Paraná

VIGITEL	Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico
VLDL	lipoproteína de densidade muito baixa
WD	<i>western diet</i>
WD DJB	<i>western diet group submitted to duodenal-jejunal bypass</i>
WD SHAM	<i>western diet group submitted to sham surgery</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	Objetivo geral.....	17
2.2	Objetivos específicos.....	17
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1	Obesidade e Diabetes Mellitus.....	18
3.2	Cirurgias metabólicas.....	20
3.3	Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA).....	25
3.4	Cirurgias metabólicas e DHGNA.....	30
3.5	Modelo animal experimental e dieta de cafeteria.....	31
4	REFERÊNCIAS.....	35
5	CAPÍTULO 1: ARTIGO CIENTÍFICO.....	44
	ANEXO A: Certificado de aprovação do projeto pelo CEEAAP.....	66
	ANEXO B: Certificado de prorrogação do projeto pelo CEEAAP.....	67
	ANEXO C: Certificado de prorrogação do projeto pelo CEEAAP.....	68
	ANEXO D: Normas da revista.....	69

1 INTRODUÇÃO

Em uma concepção ampliada do processo saúde-doença, a saúde, além da ausência de doença, é entendida como um direito que deve ser garantido e preservado, sendo determinada pelo acesso à renda, moradia, educação, trabalho, lazer, transporte e serviços em geral, tendo reflexo nas atitudes e escolhas cotidianas. A saúde é um processo em permanente construção e é influenciada por fatores individuais e coletivos. A promoção da saúde não está restrita ao campo da saúde (BRASIL, 2006), mas também às ciências políticas e econômicas.

Alterações no perfil nutricional, ocorridas no Brasil, como maior consumo de lipídios, aumento no consumo de carboidratos simples, redução no consumo de vegetais, aumento excessivo no consumo de açúcar (MONTEIRO; MONDINI; COSTA, 2000), bem como, aumento no consumo de alimentos industrializados, aliadas ao sedentarismo, levaram ao aumento na prevalência da obesidade. O fato deste aumento ocorrer em todas as faixas etárias demonstra a importância da adoção de medidas de prevenção, controle e tratamento de doenças não transmissíveis. Desta forma, políticas de saúde que visam o combate à obesidade infantil, como o Programa Saúde na Escola, Programa Nacional de Alimentação Escolar, regulamentação dos alimentos comercializados nas cantinas escolares, entre outras medidas, tem influência na saúde desde a infância até a vida adulta. Essas ações devem integrar medidas de incentivo, apoio e proteção à saúde (REIS; VASCONCELOS; BARROS, 2011).

O Plano Nacional de Alimentação e Nutrição é uma política social inserida no gênero das políticas públicas no Brasil. Baseia suas ações em sete diretrizes: 1) estímulo às ações intersetoriais com vistas ao acesso universal aos alimentos; 2) garantia de segurança e qualidade dos alimentos e da prestação de serviços nesse contexto; 3) monitoramento da situação alimentar e nutricional; 4) promoção de práticas alimentares e estilos de vida saudáveis; 5) prevenção e controle dos distúrbios nutricionais e doenças nutricionais; 6) promoção do desenvolvimento de linhas de investigação e desenvolvimento; 7) capacitação de

recursos humanos em saúde e nutrição (REIS; VASCONCELOS; BARROS, 2011).

Historicamente, as políticas públicas no Brasil vêm sendo realizadas por meio de práticas assistencialistas, refletindo-se em ações que não incorporam o reconhecimento do direito à saúde e sua garantia. As políticas públicas em saúde integram o campo de ação social do Estado, orientado para a melhoria das condições de saúde da população. Sua tarefa específica consiste em organizar as funções públicas governamentais para promoção, proteção e recuperação da saúde dos indivíduos e da coletividade. Conforme a Constituição Federal promulgada em 1988, essas políticas orientam-se pelos princípios da universalidade e equidade no acesso às ações e serviços e pelas diretrizes de descentralização da gestão, de integralidade do atendimento e de participação da comunidade na organização de um Sistema Único de Saúde (SUS) no território nacional (REIS; VASCONCELOS; BARROS, 2011).

O impacto de uma intervenção de promoção à saúde em uma perspectiva ampla, certamente poderá refletir nos gastos do SUS em relação às enfermidades e mortes evitáveis, na melhoria da qualidade de vida da população e na compreensão de que manter a saúde é uma tarefa que exige um esforço em conjunto, mobilizando o indivíduo, a comunidade e o governo (REIS; VASCONCELOS; BARROS, 2011).

No Brasil as doenças crônicas não transmissíveis, como diabetes, hipertensão e dislipidemias, constituem o problema de saúde de maior magnitude e correspondem a cerca de 70% das causas de mortes, atingindo principalmente classes pobres da população e grupos mais vulneráveis, como a população de baixa escolaridade e renda. Na última década, observou-se uma redução de aproximadamente 20% nas taxas de mortalidade pelas doenças crônicas não transmissíveis, o que pode ser atribuído à expansão da atenção básica, melhoria da assistência e redução no consumo do tabaco desde os anos 90, mostrando importante avanço na saúde dos brasileiros (BRASIL, 2011).

Em função da relevância das doenças crônicas não transmissíveis no perfil epidemiológico da população brasileira e mediante a importância do monitoramento dos seus fatores de risco, o Ministério da Saúde implantou, em 2006, o sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças

Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL). Por meio desse sistema foi constatada a prevalência da obesidade e sobrepeso, redução na frequência das atividades físicas e o hábito de assistir televisão por mais de 3 horas por dia. Esses dados são relevantes, visto que o tempo gasto em comportamentos sedentários está fortemente relacionado ao aumento no risco de desenvolver doenças, havendo múltiplas evidências de que o número de horas diárias que o indivíduo despende vendo televisão aumenta sua predisposição à obesidade, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (SM) (BRASIL, 2012).

A obesidade é uma doença epidêmica, classificada como a segunda causa de morte passível de prevenção (PORTUGAL, 2005). Em 2008 a prevalência de sobrepeso no mundo era de 1,4 bilhões de adultos (35% da população). Destes, mais de 200 milhões de homens e aproximadamente 300 milhões de mulheres estavam obesos (11% da população mundial) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013). No Brasil, em 2008, 43,3% da população apresentava sobrepeso e 13%, obesidade (BRASIL, 2009). Em 2012, 51% da população brasileira estava acima do peso e 17,1% apresentava obesidade (BRASIL, 2013). Sua gênese é multifatorial e está relacionada com a ingestão de alimentos altamente calóricos, baixa atividade física, fatores genéticos, psicológicos e sociais (PEREIRA; FRANCISCHI; LANCHI JUNIOR, 2003), sendo consequência do desequilíbrio entre a ingestão e o gasto calórico (HILL; WYATT; PETERS, 2012). A obesidade pode ser considerada uma doença sistêmica devido a seus efeitos disseminados em vários órgãos (RICCI et al., 2011) e está associada com o desenvolvimento de várias doenças, dentre elas a DM2. Estima-se que cerca de 90% dos casos de DM2 são relacionados ao excesso de peso (HOSSAIN; KAWAR; EL NAHAS, 2007).

A diabetes mellitus (DM) é uma síndrome clínica heterogênea caracterizada pela deficiência parcial ou absoluta na secreção de insulina pelo pâncreas e/ou ação prejudicada da insulina em tecidos-alvo, causando ainda alteração no metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos (DIAS et al., 2004). Em 2011, cerca de 366 milhões de pessoas estavam com diabetes e espera-se que este número aumente para 552 milhões em 2030 (WHITING et al., 2011).

Entre os diabéticos, mais de 90% apresenta DM2 (KING et al., 1998 *apud* RUBINO; MARESCAUX, 2004).

Essa resposta anormal dos tecidos periféricos à ação da insulina caracteriza a resistência à insulina (RI) (VASQUES et al., 2009), que representa o elo entre obesidade, síndrome metabólica e doenças hepáticas, como a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (RICCI et al. 2011).

A DHGNA manifesta-se como esteatose hepática ou esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) e pode evoluir para EHNA com fibrose, cirrose, carcinoma hepatocelular e falência hepática (BITENCOURT et al., 2007; BRUNT; TINIAKOS, 2010; ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2005; GUAJARDO-SALINAS; HILMY, 2010; MACHADO; MARQUES-VIDAL, CORTEZ-PINTO, 2006; MÁRQUEZ et al., 2009). É também denominada de “doença do fígado gorduroso” (MACHADO; MARQUES-VIDAL; CORTEZ-PINTO, 2006), sendo uma doença comum em pacientes obesos mórbidos (GHOLAM et al., 2007 *apud* GUAJARDO-SALINAS; HILMY, 2010).

A esteatose hepática interfere nas principais funções metabólicas do fígado (MARCEAU et al., 1999), resultando em prejuízos na qualidade de vida dos indivíduos portadores e gastos públicos e privados em saúde. Musso, Gambino e Cassader (2010) estimam que a DHGNA eleva os custos de saúde em 26% e será a principal causa de transplante de fígado em 2020 (LOMONACO; CHEN; CUSI, 2011).

A DHGNA está presente em proporção elevada de pacientes obesos e o foco principal do seu tratamento é a mudança de hábitos de vida e, principalmente, perda de peso (FREITAS et al., 2007; RABL; CAMPOS, 2012).

Uma opção de tratamento a ser investigada na tentativa de reversão das lesões hepáticas são as cirurgias bariátricas, as quais têm sido apontadas como o mais efetivo e seguro tratamento para doenças metabólicas, mais especificamente para pacientes com DM2 associada à obesidade severa. Dentre as várias técnicas cirúrgicas, a DDJ vem sendo utilizada experimentalmente em roedores e humanos (INABNET et al., 2009; RUBINO; MARESCAUX, 2004; RUBINO et al., 2006). A DDJ foi descrita primeiramente por Rubino e Marescaux (2004), que observaram a melhora da homeostase glicêmica, independente da perda de peso, em ratos Goto-Kakizaki em diferentes períodos após a DDJ (uma

e duas semanas, e, um e 36 meses) (RUBINO et al. 2010). Pouco se sabe a respeito dos mecanismos relacionados aos efeitos desta modalidade de cirurgia, especialmente sobre o metabolismo lipídico e sua relação com o controle da DM (RUBINO et al., 2006; RUBINO et al., 2010), bem como, os efeitos das cirurgias metabólicas na DHGNA e os mecanismos envolvidos.

Considerando que a obesidade tornou-se uma epidemia mundial e que a mesma está diretamente associada a outras doenças, dentre elas DM2 e DHGNA. Tendo em vista que os gastos públicos com as doenças crônicas não transmissíveis totalizam cerca de 75% das despesas do SUS com atenção à saúde. Considerando também que a procura por cirurgias bariátricas vem aumentando nos últimos 10 anos, fato este que tende a aumentar, visto que o Ministério da Saúde reduziu a idade mínima para a liberação das cirurgias pelos SUS, de 18 para 16 anos. Considerando ainda, a escassez de estudos abordando os efeitos da DDJ sobre o metabolismo lipídico hepático e sua relação com a DHGNA, justifica-se a importância deste estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos da DDJ sobre a esteatose hepática, enzimas hepáticas e perfil lipídico em ratos obesos induzidos pela dieta de cafeteria, dois meses após a cirurgia.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar em ratos obesos submetidos à DDJ:

- o grau de obesidade por meio do peso corporal dos animais, peso das gorduras retroperitoneal e perigonadal e do Índice de Lee.
- o consumo alimentar e produção de fezes.
- a concentração sérica de triglicérides (TG), colesterol (COL) total, glicose e insulina.
- a resistência à insulina através do HOMA-IR e índice TyG.
- as enzimas hepáticas [aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina].
- os aspectos histológicos do fígado.
- o peso do fígado e a concentração hepática de COL e TG.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Obesidade e Diabetes Mellitus

As mudanças demográficas, sócio-econômicas e epidemiológicas que ocorreram no Brasil permitiram a transformação dos padrões nutricionais, com diminuição progressiva da desnutrição (PEREIRA; FRANCISCHI; LANCHA JUNIOR., 2003), aumento do fornecimento de energia pela dieta e redução da atividade física, o que se pode chamar de estilo de vida ocidental contemporâneo (BLEIL, 1998; TARDIDO; FALCÃO, 2006).

A televisão contribuiu para a popularização do estilo de vida ocidental, mediante aumento no consumo difundido pelo *marketing*. A industrialização e a urbanização proporcionaram a diminuição da atividade física, com redução de mão-de-obra nos setores extrativos e agricultura e o aumento no consumo de dieta rica em gorduras, açúcares, alimentos industrializados e redução em carboidratos complexos e fibras (TARDIDO; FALCÃO, 2006), favorecendo o sobrepeso e a obesidade.

A obesidade é uma doença (JUNG, 1997) e um problema de saúde pública, pois suas consequências são muitas, como risco aumentado de morte prematura e desenvolvimento de doenças graves não letais, porém debilitantes, e que afetam a qualidade de vida.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica a obesidade em classes de Índice de Massa Corporal (IMC), calculado pela massa corporal (em quilogramas) dividida pelo quadrado da altura (em metros), variando entre baixo peso à obesidade classe III, porém não leva em consideração a distribuição de gordura corporal (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998). O sobrepeso é diagnosticado quando o IMC alcança valor igual ou superior a 25 kg/m², enquanto que a obesidade é diagnosticada a partir do IMC de 30 kg/m² (BRASIL, 2012).

No Brasil, de acordo com dados coletados pelo VIGITEL 2012 (BRASIL, 2013) em 27 capitais, o excesso de peso atinge 51% da população adulta. Homens e mulheres de baixa escolaridade apresentam maior frequência de excesso de peso, bem como de obesidade.

A obesidade está intimamente relacionada a alterações fisiológicas e propensão à ocorrência de diversas morbidades como dislipidemias, maior risco de doenças cardíacas como aterosclerose, alteração no metabolismo glicêmico, RI, DM e DHGNA, manifestações estas que associadas, compõem a SM (MCCULLOUGH, 2011; MORETTO et al., 2003; PEREIRA; FRANCISCHI; LANCHETA JUNIOR, 2003; YOSHINAGA et al., 2005). Projeções preveem que 420 milhões de pessoas terão RI e SM relacionadas à obesidade em 2030 (INABNET et al., 2009).

A DM é uma doença caracterizada pelo excesso de glicose no sangue, podendo evoluir para complicações oculares, renais, vasculares, neurológicas, dentre outras, além de ser fator de risco para alterações metabólicas e doenças cardiovasculares (BRASIL, 2012; BROWN et al., 2013; GRAPOV et al., 2012). Com o aumento na incidência de obesidade, a DM, principalmente o tipo 2, tem se tornado uma epidemia, com prevalência crescente em todo o mundo. Segundo dados do VIGITEL 2011 (BRASIL, 2012), a ocorrência da doença está associada com a idade, sendo comum a partir dos 45 anos para homens e 35 para mulheres. Na faixa etária acima dos 65 anos, um quinto dos entrevistados referiram diagnóstico de DM, apresentando-se mais prevalente em indivíduos com baixa escolaridade.

Desde 1980 as classificações e critérios diagnósticos para DM vêm sofrendo modificações, sendo desde 1997, classificada em quatro classes clínicas: 1) DM tipo 1, conhecida como insulino dependente, no qual ocorre destruição de células β por ação imunológica, levando à deficiência absoluta de insulina; 2) DM tipo 2, provocada por defeito na secreção de insulina, sendo agravada pela ocorrência concomitante de RI; representa 90% a 95 % dos casos de diabetes; 3) diabetes gestacional, definida como qualquer grau de intolerância à glicose com manifestação durante a gravidez e 4) outros tipos de diabetes, envolvendo os defeitos genéticos das células β , os defeitos genéticos na ação da

insulina, endocrinopatias, diabetes quimicamente induzido e formas incomuns de diabetes imunomediado (SBEM, 2004).

No paciente diabético e pré-diabético a combinação de RI e a hiperinsulinemia compensatória, a fim de tentar normalizar a concentração sanguínea de glicose, predispõe o desenvolvimento de intolerância à glicose, aumento da pressão sanguínea, hiperuricemia, maior concentração de fator inibidor do ativador de plasminogênio 1, aumento plasmático de TG e redução da lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) menor e mais densa, os quais predispõem o indivíduo a um risco aumentado de doença arterial coronariana (LAMARCHE et al., 1997; REAVEN et al., 1993).

3.2 Cirurgias metabólicas

O tratamento para DM, obesidade e doenças associadas visa à prevenção da manifestação de doenças associadas, bem como o restabelecimento do equilíbrio metabólico. As medidas iniciais são mudanças nutricionais e práticas de atividades físicas. Quando estas medidas não são eficazes para controlar a doença, deve-se realizar o tratamento medicamentoso e, em último caso, procedimentos cirúrgicos. Nesses casos, especialmente quando associado ao IMC elevado $>40 \text{ kg/m}^2$ ou $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ com comorbidades associadas, indica-se a cirurgia metabólica (MACHADO; MARQUES-VIDAL; CORTEZ-PINTO, 2006; SHIMIZU et al., 2012).

Há diferenças entre os termos cirurgia metabólica e cirurgia bariátrica quanto aos seus objetivos, visto que os procedimentos utilizados são os mesmos. A cirurgia bariátrica envolve procedimentos gastrointestinais visando à redução de peso, enquanto que a cirurgia metabólica, também conhecida como “cirurgia do diabetes”, tem por objetivo o controle de alterações metabólicas, principalmente a hiperglicemia (RUBINO et al., 2013).

O conceito de cirurgia metabólica foi definido por Buchwald e Varco em 1978, como a manipulação de órgão ou sistema orgânico para atingir resultado biológico com potencial ganho em saúde. (BUCHWALD e VARCO, 1978 *apud*

SHIMIZU et al, 2012). Recentemente, tem sido definida como qualquer modificação no trato gastrointestinal, no qual a reorganização do caminho de passagem dos alimentos parece melhorar a DM, de maneira independente da perda de peso. Esta nova definição de cirurgia metabólica inclui a aplicação de procedimentos bariátricos convencionais, como cirurgia bariátrica em Y de *Roux*, derivação biliopancreática, *switch* gástrico e a introdução de novos procedimentos, como DDJ e transposição ileal (INABNET et al. 2009; SHIMIZU et al., 2012).

As cirurgias metabólicas podem ser classificadas, de acordo com seu mecanismo, em três tipos: restritivas, disabsortiva ou mistas. Nas cirurgias restritivas há redução do tamanho do estômago, limitando a quantidade de alimentos que podem ser ingeridos. Nas cirurgias disabsortivas realiza-se exclusão de parte do intestino delgado, alterando o trânsito alimentar e limitando a absorção de nutrientes. Nos procedimentos mistos realiza-se a restrição do volume gástrico e o desvio de parte do intestino. Ambos os mecanismos conferem uma saciedade precoce (RUNKEL et al., 2011).

Um exemplo de cirurgia mista, a derivação biliopancreática (Figura 1A), envolve ressecção distal do estômago e direcionamento dos sucos biliopancreáticos para a porção terminal do íleo, 50 a 100 cm aproximadamente da valva íleo-cecal, excluindo o duodeno, jejuno e parte do íleo no trânsito alimentar, com a formação de um estômago funcional com capacidade de 200 a 500 mL. Gorduras e amido são absorvidos na alça comum enquanto a alça alimentar permite a absorção de nutrientes não calóricos (RUBINO, MARESCAUX, 2004; RUBINO et al., 2010).

Na técnica do *bypass* gástrico em Y de *Roux* (Figura 1B) cria-se uma pequena bolsa gástrica e divide-se o jejuno 30 a 50 cm distal do ligamento de Treitz, sendo anastomosado na bolsa gástrica formada anteriormente (anastomose gastrojejuno-bolsa). Há outra anastomose jejuno-jejuno-bolsa realizada entre 50 a 150 cm distal da anastomose gastrojejuno-bolsa, resultando em exclusão do duodeno e jejuno proximal no trânsito alimentar (RUBINO, MARESCAUX, 2004). O volume gástrico no pós-operatório imediato é em média 30 mL. Isso torna necessária uma dieta hipocalórica fracionada em pequenos volumes. No decorrer do tempo o volume é gradualmente aumentado. Esta

técnica é considerada cirurgia mista, em relação ao mecanismo de perda de peso, predominando o componente restritivo da redução do volume gástrico sobre o componente disabsortivo proporcionado pelo Y de *Roux* (FREITAS et al., 2007)

A DDJ (Figura 1C), cirurgia disabsortiva, primeiramente descrita por Rubino e Marescaux em 2004 e realizada em ratos Goto-Kakizaki, é um procedimento no qual o duodeno e jejuno proximal são excluídos do trânsito alimentar (RUBINO, MARESCAUX, 2004; RUBINO et al., 2009; RUBINO et al., 2010) através da separação do duodeno com o estômago, sendo a continuidade do intestino interrompida a 10 cm do ligamento de Treitz. A parte distal do jejuno foi anastomosada ao estômago (anastomose gastrojejunal) e a parte proximal do jejuno, onde são secretados os sucos biliopancreáticos, foi reconectada abaixo do estômago, a uma distância de 15 cm da anastomose gastrojejunal (reconstrução em Y de *Roux*). Em dois modelos experimentais de ratos com DM2, magros e obesos, o procedimento melhorou a glicemia, independentemente de alterações na ingestão alimentar, peso corporal ou absorção de nutrientes, sendo uma opção para o tratamento da DM2 (RUBINO et al., 2010). Jurowich et al. (2013) (Figura 1D) realizaram a DDJ em ratos Lewis tratados com dieta hiperlipídica e estreptozotocina. Os autores observaram que a menor absorção de glicose pelo intestino delgado contribui para o efeito positivo da DDJ no controle glicêmico. A DDJ realizada por Jurowich et al (2013) difere da realizada por Rubino e Marescaux (2004), Rubino et al. (2009) e Rubino et al. (2010). Nesta cirurgia é realizada a transecção pós-pilórica do duodeno, próximo ao coto duodenal e a reconstrução da passagem intestinal pela duodenojejunostomia término-lateral a 5 cm da flexura duodeno-jejunal.

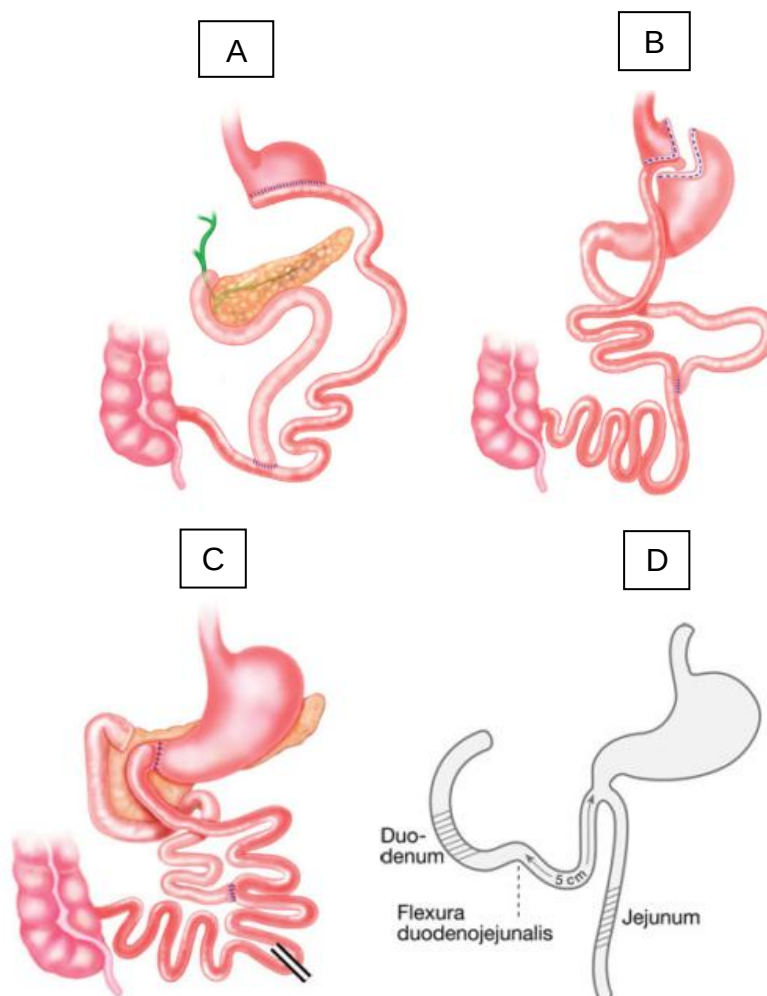


Figura 1 – Representação da derivação biliopancreática (A), *bypass* gástrico em Y de Roux (B) e DDJ (C), retiradas de RUBINO et al., 2010, e a DDJ (D) de JUROWICH et al., 2013.

Em levantamento mundial sobre as cirurgias metabólicas, realizado por Buchwald e Oien (2013), dos 340.768 procedimentos cirúrgicos efetuados em 2011, 6.705 eram cirurgias metabólicas. Entre elas, o procedimento mais comum foi *bypass* gástrico em Y de Roux (47%), sendo comum também a gastrectomia vertical (28%), banda gástrica ajustável (18%) e derivação biliopancreática com *switch* duodenal (2%).

Não há técnica considerada padrão ouro, nem método padronizado para a seleção da técnica cirúrgica mais apropriada. A escolha do procedimento é influenciada por características do paciente (estado de saúde, IMC, idade, sexo,

presença de comorbidades e o estado psicológico), experiência dos profissionais nas diferentes técnicas, cuidados pós operatórios e o equilíbrio entre efetividade, segurança, complexidade e reversibilidade, bem como, a preferência do paciente, após ser plenamente informado sobre os procedimentos disponíveis (RUNKEL et al., 2011; DIXON et al., 2012).

Rubino et al. (2009) e Rubino et al. (2010) mostraram a remissão da DM2 em 50 a 98% dos pacientes, utilizando diversas técnicas de cirurgia metabólica. A resolução da DM2 é definida como a persistência da normoglicemia sem a utilização de medicamentos.

Geloneze et al. (2012) estudaram o efeito da DDJ em pacientes diabéticos tipo 2 não obesos. Um ano após a DDJ, houve redução da concentração de hemoglobina glicada e da glicemia no estado alimentado, redução da resistência à insulina e insulinemia. Houve também a melhora na secreção de alguns hormônios. Não houve alteração na concentração plasmática de ácidos graxos (AG), no perfil lipídico plasmático, bem como no IMC.

Araujo et al. (2012) mostraram que ratos Wistar submetidos a dieta de cafeteria por 40 semanas tornaram-se obesos, hiperinsulinêmicos, resistentes à insulina e com maior conteúdo hepático de gorduras e glicogênio, e na análise 5 semanas após a realização da DDJ, houve melhora no conteúdo hepático de gorduras, no acúmulo hepático de glicogênio, na homeostase glicêmica e ação da insulina além de melhorar a função das células β -pancreáticas, sem alterar adiposidade, sugerindo que o controle glicêmico possa ser efeito direto da DDJ e não secundário à perda de peso.

Alternativas menos invasivas que a realização de cirurgias metabólicas vem sendo estudadas. Uma dessas alternativas, o *duodenal-jejunal bypass liner* (DJBL) é um implante endoscópico que mimetiza o componente duodeno-jejunal do *bypass* em Y de Roux. No acompanhamento de pacientes, 1 anos após o implante do DJBL, verificou-se que este período de utilização do DJBL é seguro e que resultou na redução do peso corporal, da circunferência da cintura, melhora na pressão sanguínea, COL, LDL, TG e glicemia no estado alimentado (ESCALONA et al., 2012).

3.3 Doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA)

A esteatose hepática caracteriza-se pelo acúmulo de TG no hepatócito (MÁRQUEZ et al., 2009) na forma gotas lipídicas (BRUNT; TINIAKOS, 2010; NEUSCHWANDER-TETRI, 2005). A esteatose é geralmente macrovesicular, caracterizada por hepatócitos com grandes gotas lipídicas intracitoplasmáticas, bem definidas, que deslocam o núcleo da célula para a periferia (BRUNT; TINIAKOS, 2010). Na microesteatose há a presença de pequenas gotas lipídicas, bem definidas, no citoplasma celular, deslocando o núcleo da célula para sua periferia e conferindo aspecto espumoso ao hepatócito (BRUNT; TINIAKOS, 2010; NEUSCHWANDER-TETRI, 2005). A esteatose macrovesicular pode ocorrer concomitantemente com a microvesicular (BRUNT; TINIAKOS, 2010).

A EHNA caracteriza-se pela esteatose, inflamação e lesão celular, como balonização, corpúsculos acidófilos e inflamação lobular. A inflamação lobular ocorre tipicamente na zona acinar 3 (BRUNT et al., 1999; BRUNT; TINIAKOS, 2010).

A DHGNA é uma das principais doenças do fígado e afeta cerca de 30% da população mundial, enquanto a EHNA, uma de suas manifestações, afeta cerca de 3%, dados similares são observados nos Estados Unidos da América (EUA) (BELLENTANI et al., 2010; NEUSCHWANDER-TETRI, 2005; MACHADO; MARQUES-VIDAL; CORTEZ-PINTO, 2006). Entre os pacientes obesos, 80% podem desenvolver a DHGNA (GUAJARDO-SALINAS; HILMY, 2010). Muitos casos ocorrem na 5ª ou 6ª década de vida, sendo mais frequente em mulheres e pessoas com obesidade ou DM2 (MCCULLOUGH, 2011).

A patogênese da DHGNA não está completamente compreendida. A obesidade, RI ou o aumento plasmático de TG têm sido apontados como causas da esteatose (NEUSCHWANDER-TETRI, 2005; TAKEUCHI-YORIMOTO et al., 2013).

O tecido adiposo constitui um tecido de reserva, onde pode ser armazenada energia de forma concentrada (lipídios). Em outros tecidos, especialmente fígado, músculo e pâncreas, o acúmulo de lipídios pode ocorrer em situações especiais (BUGIANESI et al., 2010).

O tecido adiposo pode se tornar resistente à insulina, e desta forma aumentar a lipólise de TG nos adipócitos, devido a maior necessidade energética. Estes efeitos aumentam a liberação de ácidos graxos livres (AGL) do tecido adiposo para o fígado (CHOI; DHIEL, 2008; CUSI, 2009; JOU; CHOI; DIEHL, 2008; KLAUS, 2004).

O fígado apresenta papel importante no metabolismo lipídico (GUTURU; DUCHINI, 2012). Os AGL no fígado podem ser esterificados, originando TG, ou serem oxidados na mitocôndria pela β -oxidação (JOU; CHOI; DIEHL, 2008). A esterificação ou a oxidação dos AGL é importante, pois, em sua forma natural, eles exercem toxicidade celular, podendo gerar danos nos tecidos (CHOI; DIEHL, 2008). Os AGL, ao serem convertidos em TG, são associados à apolipoproteína B (apoB), entre outras apolipoproteínas, e secretados para o organismo na forma de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (AVRAMOGLU; BASCIANO; ADELI, 2006; JOU; CHOI; DIEHL, 2008). O excesso de VLDL aumenta a oferta de AGL e TG aos músculos e outros tecidos, induzindo a RI. O aumento da secreção de VLDL pode promover alterações na concentração de outras lipoproteínas, como LDL (AVRAMOGLU; BASCIANO; ADELI, 2006). Caso os AGL sejam β -oxidados, resultam na produção de acetil-CoA e energia na forma de adenosina trifosfato (ATP) (LEAMY; EGNATCHIK; YOUNG, 2012). A β -oxidação também ocorre nos peroxissomos e retículo endoplasmático (BUGIANESI et al., 2010).

No obeso resistente à insulina, no qual o aporte de AGL, devido à lipólise, é intenso, a oferta de AGL pode superar a capacidade do fígado de secretar TG na forma de VLDL e da mitocôndria de realizar a β -oxidação, então este excesso de AGL esterificado em TG, para evitar lesão tecidual, é acumulado no citoplasma dos hepatócitos na forma de gotículas, causando a esteatose hepática (CHOI; DIEHL 2008; GUTURU; DUCHINI, 2012; JOU; CHOI; DIEHL, 2008).

A RI provoca uma hiperinsulinemia compensatória (CHOI; DHIEL, 2008). A hiperinsulinemia promove a dessensibilização dos hepatócitos aos efeitos promovidos pela insulina, de supressão pós-prandial da gliconeogênese, resultando em hiperglicemia. Entretanto, alguns hepatócitos mantêm sua sensibilidade à insulina (JOU; CHOI; DIEHL, 2008) e, mesmo na presença de hiperinsulinemia, o fígado converte o excesso de carboidratos em gorduras, sendo esse processo denominado *de novo* lipogênese (DNL). O fígado realiza a

DNL a fim de controlar a glicemia e prevenir a hiperglicemia, no entanto, ao preservar a homeostase glicêmica, rompe com a homeostase do metabolismo lipídico por aumentar a concentração de TG, fator que, por si só, aumenta a RI e estabelece um ciclo vicioso. Desta forma a DNL pode ser um fator determinante na indução da hipertrigliceridemia em pessoas resistentes à insulina, independente da dieta (SCHWARZ et al., 2003). Do conteúdo hepático de TG, 59% provém de AGL e 26,1% provém da DNL (GUTURU; DUCHINI, 2012).

A insulina controla a expressão hepática de *sterol regulatory elemento binding protein* (SREBP), que é um fator de transcrição responsável pela regulação da biossíntese de AG e COL. SREBP ativa enzimas envolvidas na biossíntese de colesterol como a 3-hidroxi-3-metil coenzima A (HMG-CoA) redutase e ácido graxo sintase (FAS). A insulina aumenta a expressão de SREBP em seus três principais tecidos-alvo: fígado, tecido adiposo e músculo esquelético. Este mesmo aumento na expressão de SREBP ocorre na hiperinsulinemia (AVRAMOGLU; BASCIANO; ADELI, 2006). A RI apresenta papel importante no estabelecimento da esteatose hepática e sua progressão à EHNA, por promover *up-regulation* de genes que modulam a lipogênese [*sterol regulatory elemento-binding protein-1c* (SREBP-1c), FAS], inflamação [interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF- α)] e fibrogênese [*transforming growth factor* - β (TGF- β)] (OTA et al., 2007).

Acredita-se que a progressão da esteatose hepática para EHNA seja devido à ação de citocinas inflamatórias e ao estresse oxidativo (JOU; CHOI; DIEHL, 2008).

O tecido adiposo age como órgão endócrino por produzir diversas citocinas (BUGIANESI et al., 2010; CUSI, 2009), entre elas, a interleucina 6 (IL-6) e TNF- α . A IL-6 está associada a RI em humanos e piora a sinalização da insulina nos hepatócitos (OTA et al., 2007).

O TNF- α é uma das citocinas envolvidas na relação entre a disponibilidade de nutrientes e a ativação do sistema imune inato e o desenvolvimento da DHGNA (BUGIANESI et al., 2010). O TNF- α está envolvido com mecanismos de apoptose do hepatócito, ativação de células estreladas e acúmulo hepático de células inflamatórias. Também inibe a propagação de sinais iniciados pelo receptor de insulina/insulina, que promovem a sobrevivência dos hepatócitos

(JOU; CHOI; DIEHL, 2008). A expressão hepática aumentada de TNF- α precede a expressão de genes fibrogênicos, como TGF- β , colágeno-I e fator inibidor do plasminogênio-1, assim, a inflamação precede a fibrose (OTA et al., 2007).

A oxidação de AGL gera espécies reativas de oxigênio (ROS) e equivalentes redutores, como a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH). Isso promove a alteração do estresse redox e interfere na função normal de organelas celulares, como o retículo endoplasmático e a mitocôndria (JOU; CHOI; DIEHL, 2008). Ácidos graxos saturados apresentam maior toxicidade ao tecido, e causam estresse do retículo endoplasmático, afetam o metabolismo da mitocôndria e promovem o acúmulo de ROS (LEAMY; EGNATCHIK; YOUNG, 2012). A produção excessiva de ROS pode sobrecarregar as defesas antioxidantes e gerar peróxidos lipídicos altamente tóxicos. A disfunção mitocondrial altera a eficiência da síntese de ATP, aumentando o risco de necrose celular (JOU; CHOI; DIEHL, 2008).

A interação entre hepatócitos, macrófagos e células estreladas hepáticas determinam o grau de resposta fibrogênica e a potencial progressão da EHNA para cirrose (CUSI, 2009).

A relação entre DHGNA e SM é bidirecional. A DHGNA é um forte preditor de SM, e por sua vez, o conteúdo lipídico hepático está aumentado em pacientes com SM (BUGIANESI et al., 2010). Desta forma, sugere-se que a DHGNA seja considerada um dos critérios para o diagnóstico de SM (MACHADO; MARQUES-VIDAL; CORTEZ-PINTO, 2006).

As classificações mais utilizadas como critério de confirmação e estadiamento da DHGNA, baseadas em características histológicas, são a de Brunt et al. (1999) e a de Kleiner et al. (2005). Brunt et al. (1999) atribui um escore para cada alteração histológica, utilizando a combinação dos escores para estabelecer o estadiamento da doença em leve (grau 1), moderado (grau 2) e grave (grau 3), de acordo com a tabela 1. Kleiner et al. (2005) avaliaram 14 achados, sendo 5 de forma semiquantitativa e 9 de acordo com presença ou ausência, agrupando estes dados em cinco categorias: esteatose, inflamação, injúria hepatocelular, fibrose e alterações diversas. Os autores atribuíram um escore de 0 a 8, que considera a esteatose, inflamação e balonização, que são alterações de fácil reversibilidade. A fibrose não é inclusa, pois os autores a

consideram como resultado da atividade da doença, além de considerarem ser menos reversível.

Tabela 1 – Determinação do estadiamento da EHNA.

Grau	Esteatose	Balonização	Inflamação	
			acinar	portal
1 – Leve	1 - 2	Minima	1 -2	0 -1
2 – Moderado	2 – 3	Presente	2	1-2
3 – Grave	3	Marcante	3	1-2

Fonte: BRUNT, E. M. et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 94, n. 9, p. 2467–74, 1999.

Diversas técnicas podem ser utilizadas tanto para o diagnóstico da DHGNA, como a avaliação da função hepática e ultrassom, ressonância magnética, tomografia computadorizada, impulso de força de radiação acústica (GUAJARDO-SALINAS; HILMY, 2010; GUZMÁN-AROCA et al., 2012; HAFEEZ; AHMED, 2013) porém apresentam sensibilidade e especificidade moderadas. O padrão ouro para o diagnóstico é a realização de biópsia (GUAJARDO-SALINAS; HILMY, 2010). Formas não invasivas de diagnóstico tem sido propostas, utilizando a combinação de dados antropométricos e biomarcadores sorológicos a fim de reduzir a necessidade de biópsias, visto que a biópsia, por ser uma técnica invasiva, apresenta riscos ao paciente (PIRVULESCU et al., 2012; YANG et al., 2012).

As enzimas hepáticas (AST, ALT, fosfatase alcalina) são utilizadas como marcadores de lesão hepática (BEHARI et al., 2010), bem como indicadores da síntese e secreção normal do órgão, pois suas concentrações sanguíneas costumam elevar-se na presença de dano hepático, sendo estes dados utilizados para orientar a prática clínica (AKWAA ; ZUBIER; SHEHRI, 2011). A elevação da concentração das transaminases está frequentemente associada com obesidade e DHGNA (BURZA et al., 2013).

3.4 Cirurgias metabólicas e DHGNA

O melhor tratamento para a DHGNA é a redução do peso, seja através de mudança do estilo de vida, medicação (medidas usualmente adotadas) ou realização de cirurgia bariátrica. No entanto, a DHGNA, por si, não é indicação para a cirurgia (HAFEEZ; AHMED, 2013).

Estudos têm sugerido que a perda de peso em pacientes obesos graves após a cirurgia bariátrica pode ser bastante promissora, inclusive no tratamento da DHGNA (BITENCOURT et al., 2007). Sabe-se que há melhora no aspecto histológico do fígado, quando comparada amostras coletadas no dia da cirurgia e após a perda de peso. Poucos pacientes apresentam leve piora, o que está relacionado ao elevado IMC e grau da DHGNA, e não com a técnica utilizada (RABL; CAMPOS, 2012). Essa progressão da DHGNA está relacionada com a taxa de perda de peso. Procedimentos em que há rápida perda de peso, durante os 6 primeiros meses a um ano após a cirurgia, podem promover um aumento excessivo da transferência de ácidos graxos de cadeia longa do tecido adiposo, devido a lipólise, para serem metabolizados no fígado (VERNA; BERK, 2008).

Márquez et al. (2009) mostraram que pacientes obesos apresentavam 88% de prevalência da DHGNA, 61% de esteatose e 38,8% de EHNA. Dezoito meses após a derivação bíliopancreática, 28,2% não apresentaram DHGNA. Dos pacientes com EHNA, 71,8% apresentaram melhora na doença, apresentando apenas esteatose, enquanto 7,2% mantiveram a EHNA.

Shimizu et al. (2013), em sua revisão na literatura, observaram que a cirurgia metabólica resultou em perda de peso, melhora da DHGNA e SM, normalização da histologia do fígado e melhora nas concentrações das transaminases hepáticas (AST e ALT), COL, TG em pacientes com cirrose hepática.

Burza et al. (2013) realizaram o acompanhamento de pacientes do *Swedish Obese Subjects (SOS) Study*, no qual acompanharam estes pacientes por quatro semanas antes da data da cirurgia bariátrica e 2 e 10 anos após a intervenção. Após 2 anos, a AST e ATL reduziram no grupo operado, não havendo alterações no grupo controle. Os autores mostram que essas alterações

são proporcionais à perda de peso. Após 10 anos, houve um aumento na AST, significativamente menor no grupo operado em relação ao controle.

A técnica de Y de *Roux* está associada com frequente remissão das alterações histológicas, com redução da esteatose (RABL; CAMPOS, 2012). Furuya Jr et al. (2007) relatam resolução da esteatose em 84% dos pacientes, da fibrose em 75% e balonização em 50%. Não houve agravamento da doença em nenhum paciente, 24 meses após a cirurgia e o perfil lipídico plasmático e a glicemia estavam próximos do normal. Barker et al. (2006) relatam melhora na histologia, RI, perfil lipídico e glicemia em estado alimentado na maioria dos pacientes, independente da perda de peso; porém 2 pacientes apresentaram piora da DHGNA, 21 meses após a cirurgia. Mottin et al. (2005) relatam melhora da esteatose em 82,2% de 90 pacientes após a perda de peso em um ano após a cirurgia.

De Jorge et al. (2013) observaram em pacientes obesos, 24 semanas após a colocação do DJBL, redução na concentração plasmática de enzimas relacionadas à DHGNA.

3.5 Modelo animal experimental e dieta de cafeteria

Estudos realizados em animais de laboratório, em conjunto com outros realizados em humanos, fornecem uma base importante para a compreensão de vários processos fisiológicos e patológicos associados à obesidade, DM e RI (POLITI; PIETRO; SALGADO, 2008).

A indução à RI pode ser obtida por modelos genéticos, secundária a uma condição patológica ou induzida pela administração de dietas ou drogas, como a administração de dieta rica em frutose, que pode causar hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, RI e elevação da pressão arterial (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006).

Diversos modelos animais induzidos por dieta são utilizados para estudar a esteatose hepática e EHNA. As dietas usualmente utilizadas para esse fim são a hiperlipídica e a dieta deficiente em metionina e colina (MCD).

Ratos Wistar submetidos à dieta MCD, por oito semanas, desenvolvem EHNA com características histológicas iguais às observadas em humanos com DHGNA (BEHARI et al., 2010; TAKEUCHI-YORIMOTO et al., 2013). A EHNA também se desenvolve rapidamente quando é ofertada aos animais, dieta deficiente em colina, visto que colina é essencial para a β -oxidação hepática e produção de VLDL. A dieta aumentou a concentração de AST, ALT, fosfatase alcalina e promoveu EHNA. Tanto o grupo que recebeu dieta com suplementação de colina durante todo o período experimental quanto o grupo que recebeu essa suplementação ao final do experimento, apresentaram melhora na concentração das enzimas hepáticas e redução da gravidade da esteato-hepatite, porém a fibrose não alterou (TAKEUCHI-YORIMOTO et al., 2013).

Ota et al. (2007) ofertaram para ratos Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) e ratos controle não diabéticos Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO), com 24 semanas de vida, ração padrão ou dieta MCD ou dieta MCD associada à dieta hiperlipídica ou dieta MCD e pioglitazona (um medicamento antidiabético), por 8 semanas. A dieta MCD promoveu o desenvolvimento de EHNA em ratos e a associação da dieta MCD com a dieta hiperlipídica induziu o desenvolvimento de EHNA e RI, com o desenvolvimento de fibrose. O grupo OLETF que recebeu a dieta MCD associada à pioglitazona apresentou atenuação da EHNA devido à melhora da RI. Com esse estudo verificaram que a esteatose precede a inflamação, a qual precede a fibrose. Observaram também que a RI está relacionada com a progressão da esteatose hepática para EHNA, através da estimulação de genes relacionados à lipogênese, inflamação e fibrogênese.

Ahmed, Redgrave e Oates (2009) estudaram ratos Sprague-Dawley submetidos à dieta hiperlipídica por 3 e 5 semanas. Os autores observaram que após 5 semanas de dieta os animais apresentaram esteatose hepática microvesicular e macrovesicular e aumento da concentração hepática de TG no grupo dieta hiperlipídica a vontade. As concentrações de AST e ALT não alteraram entre os grupos. O marcador de estresse oxidativo estava menor no grupo controle e a expressão hepática de mRNA de citocinas e marcadores de estresse endoplasmáticos foram iguais entre os grupos com dieta a vontade.

O modelo que mais se assemelha à obesidade humana é o modelo de obesidade exógena, no qual é ofertado ao animal maior aporte calórico através de

uma sobrecarga de gordura ou carboidratos, isoladamente ou em associação (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006). O modelo de indução à obesidade por dieta mais utilizada em roedores é a dieta hiperlipídica. Esta dieta caracteriza-se pela troca de calorias provenientes de carboidratos por calorias provenientes de gorduras (SAMPEY et al., 2011), causando alterações no perfil lipídico, estando estas alterações associadas com a SM (WUESCHER et al., 2012). No entanto, a dieta de cafeteria, “ocidentalizada” ou “*fast-food*” é a dieta que melhor reflete a dieta humana, e por ser altamente palatável, há preferência por parte do animal por esta dieta em detrimento da ração padrão para roedores. Ela é composta por alimentos com elevada concentração energética, rica em sódio, gorduras trans e saturadas e em COL e pobre em fibras e micronutrientes, como vitamina A e cálcio. Nesta dieta são acrescidas à dieta padrão substâncias altamente calóricas, como *bacon*, chocolates, amendoim, carnes processadas, biscoitos, refrigerantes e guloseimas (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006; SAMPEY et al., 2011), produzindo um incremento no peso corporal total de aproximadamente 30 a 40% ao final de 12 semanas de estudo; além de produzir aumento significativo na quantidade de gordura visceral, o desenvolvimento de RI e hiperleptinemia (DE PAULA; DA SILVA; HALL, 2004).

A ingestão da dieta de cafeteria pode induzir alterações no metabolismo glicêmico, lipídico (hipertrigliceridemia) e na função endotelial (NADERALI et al., 2001), além de RI e inflamação, sendo assim um modelo útil no estudo da SM (SAMPEY et al., 2011).

Sampey et al. (2011) comparando a dieta de cafeteria com dieta hiperlipídica, dieta hipolipídica e ração padrão, ofertada a ratos Wistar por 15 semanas, verificaram que a dieta de cafeteria aumentou significativamente o peso corporal dos animais, além de provocar hiperinsulinemia, hiperglicemia, RI, aumento da massa de tecido adiposo branco e marrom, inflamação e disfunção nas ilhotas pancreáticas. Quanto aos aspectos histológicos do fígado, os animais com dieta padrão apresentaram estrutura normal, os que receberam dieta hipolipídica apresentaram acúmulo macrovesicular de lipídios e os grupos das dietas hiperlipídica ou dieta de cafeteria apresentaram esteatose macrovesicular e microvesicular. Na avaliação de macrófagos e regiões com infiltrado inflamatório, os animais com dieta padrão não apresentaram inflamação, os com dieta

hipolipídica apresentaram poucas regiões, enquanto os com hiperlipídica ou dieta de cafeteria apresentaram significativa inflamação, diferindo no tamanho e localização destas regiões.

Pasarín et al. (2012) submeteram ratos Wistar Kyoto à dieta de cafeteria por 1 mês e verificaram a ocorrência de aumento do peso corporal, aumento da concentração plasmática de TG, AGL e bilirrubina, aumento do peso do fígado e TG e AGL hepáticos. Todavia não houve alteração da AST, porém observaram redução da ALT. Houve o desenvolvimento de esteatose hepática, localizada principalmente em áreas periféricas, sem aumento da expressão do *alpha smooth muscle* (α -SMA), o que indica um estágio inicial da DHGNA. Verificaram também hipertensão arterial e que a disfunção endotelial hepática ocorre antes do desenvolvimento de fibrose ou inflamação.

4 REFERÊNCIAS

AHMED, U.; REDGRAVE, T. G.; OATES, P. S. Effect of the dietary fat to produce non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of Gastroenterology**, v. 24, n.8, p. 1463-1471, 2009.

AKWAA, A. AL; ZUBIER, A. EL; SHEHRI, M. AL. Pattern of liver function tests in morbidly obese Saudi patients undergoing bariatric surgery. **Saudi Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 4, p. 252–255, 2011.

ARAUJO, A. C. F. et al. Duodenal-jejunal bypass surgery enhances glucose tolerance and beta-cell function in Western diet obese rats. **Obesity Surgery**, v. 22, n. 5, p. 819–826, 2012.

AVRAMOGLU, R. K.; BASCIANO, H.; ADELI, K. Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistant states. **Clinica Chimica Acta**, v. 368, n. 1-2, p. 1–19, 2006.

BARKER, K. B. et al. Non-alcoholic steatohepatitis: effect of Roux-en-Y gastric bypass surgery. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 101, n. 2, p. 368-373, 2006.

BEHARI, J. et al. Liver-specific beta-catenin knockout mice exhibit defective bile acid and cholesterol homeostasis and increased susceptibility to diet-induced steatohepatitis. **The American Journal of Pathology**, v. 176, n. 2, p. 744–753, 2010.

BELLENTANI, S. et al. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. **Digestive Diseases**, v. 28, n.1, p. 155-161, 2010.

BITENCOURT, A. G. V. et al. Doença hepática gordurosa não alcoólica : características clínicas e histológicas em obesos graves submetidos à cirurgia bariátrica. **Acta Gastroenterológica Latinoamericana**, v. 37, n.4, p. 244-230, 2007.

BLEIL, S. I. O Padrão Alimentar Ocidental : considerações sobre a mudança de hábitos no Brasil. **Cadernos de Debate**, v. 4, p. 1–25, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Cadernos de Atenção Básica n.12 - Obesidade**. Brasília, 2006.

_____, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **VIGITEL Brasil 2008: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2009.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022**. Brasília, 2011.

_____, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **VIGITEL Brasil 2011: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2012.

_____, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **VIGITEL Brasil 2012: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2013.

BROWN, R. E. et al. All-cause and cardiovascular mortality risk in U. S. adults with and without type 2 diabetes: influence of physical activity, pharmacological treatment and glycemic control. **Journal of Diabetes and its Complications**. 2013.

BRUNT, E. M. et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 94, n. 9, p. 2467–2474, 1999.

BRUNT, E. M.; TINIAKOS, D. G. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 42, p. 5286, 2010.

BUCHWALD, H.; OIEN, D. M. Metabolic/bariatric surgery worldwide 2011. **Obesity Surgery**, v. 23, n. 4, p. 427-436, 2013.

BUGIANESI, E. et al. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, n. 17, p. 1941–51, 2010.

BURZA, M. A. et al. Long-term effect of bariatric surgery on liver enzymes in the Swedish Obese Subjects (SOS) Study. **Plos One**, v. 8, n. 3, p. 1–6, 2013.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JUNIOR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 190–197, 2006.

CHOI, S. S.; DIEHL, A. M. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. **Current Opinion in Lipidology**, v. 19, p. 295-300, 2008.

CUSI, K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. **Clinics in Liver Disease**, v. 13, n. 4, p. 545–63, 2009.

DE JORGE, C. et al. Endoscopic duodenal-jejunal bypass liner rapidly improves plasma parameters of noalcoholic fatty liver disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, p. 1517-1520, 2013.

DE PAULA, R.B.; DA SILVA, A. A.; HALL, J. E. Aldosterone antagonism attenuates obesity-induced hypertension and glomerular hyperfiltration. **Hypertension**, v.43, p. 41-47, 2004.

DIAS, A. S. et al. Alterações gastrointestinais no diabetes mellitus: estresse oxidativo e fluxo sanguíneo da artéria mesentérica – estudo experimental. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 41, n. 2, p.108-113, 2004.

DIXON, J. B. et al. Bariatric surgery for type 2 diabetes. **Lancet**, v. 379, n. 9833, p. 2300–11, 2012.

ECKEL, R.; GRUNDY, S.; ZIMMET, P. The metabolic syndrome. **The Lancet**, v. 365, p. 1415–1428, 2005.

ESCALONA, A. et al. Weight loss and metabolic improvement in morbidly obese subjects implanted for 1 year with an endoscopic duodenal-jejunal bypass liner. **Annals of Surgery**, v. 255, n. 6, p. 1080–5, 2012.

FREITAS, A. C. T. et al. Doença hepática não-alcoólica : evolução após derivação gastrojejunal em Y-de-Roux pela técnica de Fobi-Capella. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 44, n. 1, p. 49–53, 2007.

FURUYA Jr, C. K. et al. Effects of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease: preliminary findings after 2 years. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 22, n. 4, p. 510-514, 2007

GELONEZE, B. et al. Metabolic surgery for non-obese type 2 diabetes incretines, adipocytokines, and insulin secretion/resistance in a 1-year interventional clinical controlled study. **Annals of Surgery**, v. 256, n. 1, p. 72-78, 2012.

GRAPOV, D. et al. Type 2 diabetes associated changes in the plasma non-esterified fatty acids, oxylipins and endocannabinoids. **Plos One**, v. 7, n. 11, p. 1-11, 2012.

GUAJARDO-SALINAS, G. E.; HILMY, A. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and utility of FIBROspect II to detect liver fibrosis in morbidly obese hispano-american patients undergoing gastric bypass. **Obesity Surgery**, v.20, p. 1647–1653, 2010.

GUTURU, P.; DUCHINI, A. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: role of obesity, insulin resistance and mechanisms of hepatotoxicity. **International Journal of Hepatology**, v. 2012, 2012.

GUZMÁN-AROCA, F. et al. Detection of non-alcoholic steatohepatitis in patients with morbid obesity before bariatric surgery: preliminary evaluation with acoustic radiation force impulse imaging. **European Radiology**, v. 22, n. 11, p. 2525–32, 2012.

HAFAEEZ, S.; AHMED, M. H. Bariatric surgery as potential treatment for nonalcoholic fatty liver disease: a future treatment by choice or by chance? **Journal of Obesity**, v. 2013, p. 839275, 2013.

HILL, J. O.; WYATT, H. R.; PETERS, J. C. Energy balance and obesity. **Circulation**, v.126, p. 126-132, 2012.

HOSSAIN, P.; KAWAR, B.; EL NAHAS, M. Obesity and diabetes in the developing world — a growing challenge. **The New England Journal of Medicine**, v. 352, n.3, p. 213-215, 2007.

INABNET, W. B.; MILONE, L.; KORNER, J.; et al. A rodent model of metabolic surgery for study of type 2 diabetes and positron emission tomography scanning of

beta cell mass. **Surgery for Obesity and Related Diseases**, v. 5, n. 2, p. 212–217, 2009.

JOU, J.; CHOI, S. S.; DIEHL, A. M. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. **Seminars in Liver Disease**, v. 24, n. 4, p. 370–379, 2008.

JUNG, R. T. Obesity as a disease. **British Medical Bulletin**, v. 3, n. 2, p. 307–321, 1997.

JUROWICH, C. F. et al. Duodenal-jejunal bypass improves glycemia and decreases SGLT1-mediated glucose absorption in rats with streptozotocin-induced type 2 diabetes. **Annals of Surgery**, v. 258, n. 1, p. 89–97, 2013.

KLAUS, S. Adipose tissue as a regulator of energy balance. **Current Drugs Targets**, v. 5, n. 3, p. 241–250, 2004.

KLEINER, D. E. et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 41, n. 6, p. 1313–1321, 2005.

LAMARCHE, B. et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. **Circulation**, v. 95, p. 69–75, 1997.

LEAMY, A. K.; EGNATCHIK, R. A.; YOUNG, J. D. Molecular mechanisms and the role of saturated fatty acids in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. **Progress in Lipid Research**, 2012.

LOMONACO, R.; CHEN, J.; CUSI, K. An endocrine perspective of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism**, v. 2, n. 5, p. 211–225, 2011.

MACHADO, M.; MARQUES-VIDAL, P.; CORTEZ-PINTO, H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. **Journal of Hepatology**, v. 45, n. 4, p. 600–606, 2006.

MARCEAU, P. et al. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 84, n. 5, p. 1513–1517, 1999.

MÁRQUEZ, M. F. et al. Influence of bariatric surgery on the non-alcoholic liver steatosis. A histological evaluation. **Cirugía Española**, v. 86, n. 2, p. 94–100, 2009.

MCCULLOUGH, A. J. Epidemiology of the metabolic syndrome in the USA. **Journal of Digestive Diseases**, v. 12, n. 5, p. 333–340, 2011.

MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; COSTA, R. B. L. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 3, 2000.

MORETTO, M.; et al. Hepatic steatosis in patients undergoing bariatric surgery and its relationship to body mass index and co-morbidities. **Obesity Surgery**, v. 13, n. 4, p. 622–624, 2003.

MOTTIN, C. C. et al. Histological behavior of hepatic steatosis in morbidly obese patients after weight loss induced by bariatric surgery. **Obesity Surgery**, v. 15, n.6, p. 788-793, 2005

MUSSO, G.; GAMBINO, R.; CASSADER, M. Non-alcoholic fatty liver disease from pathogenesis to management: an update. **Obesity Reviews**, vol. 11, n. 6, p. 430–445, 2010.

NADERALI, E.K. et al. Diet- induced endothelial dysfunction in the rat is independent of the degree of increase in total body weight. **Clinical Science**, v. 100, p. 635-641, 2001.

NEUSCHWANDER-TETRI, B. A. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. **The American Journal of Medical Sciences**, v. 330, n. 6, p. 326-335, 2005.

OTA, T. et al. Insulin resistance accelerates a dietary rat model of nonalcoholic steatohepatitis. **Gastroenterology**, v. 132, n. 1, p. 282–93, 2007.

PASARÍN, M. et al. Sinusoidal endothelial dysfunction preceds inflammation and fibrosis in a model of NAFLD. **Plos One**, v. 7, n.4, 2012.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P. DE; LANCH JR., A. H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, n. 2, p. 111–127, 2003.

PIRVULESCU, I. et al. Noninvasive clinical model for the diagnosis of nonalcoholic steatohepatitis in overweight and morbidly obese patients undergoing to bariatric surgery , **Chirurgia**, v. 107 , n. 6, p. 772–779, 2012.

POLITI, F. A. S.; PIETRO, R. C. L. R.; SALGADO, H. R. N. Caracterização de biotérios, legislação e padrões de biossegurança. **Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n.1, p.12-28, 2008.

PORTUGAL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Combate à Obesidade**. Circular Normativa. N.03/DGCG. 2005.

RABL, C.; CAMPOS, G. M. The impact of bariatric surgery on nonalcoholic steatohepatitis. **Seminars in Liver Disease**, v. 32, n. 1, p. 80–91, 2012.

REAVEN, G. M. et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small, dense, low density lipoprotein particles. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 92, p.141-146, 1993.

REIS, C. E. G.; VASCONCELOS, I. A. L.; BARROS, J. F. N. Políticas públicas de nutrição para o controle da obesidade infantil. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 29, n. 4, p. 625–633, 2011.

RICCI, G. et al. Nutrient intake in italian obese patients: relationships with insulin resistance and markers of non-alcoholic fatty liver disease. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 27, n. 6, p. 672–676, 2011.

RUBINO, F.; MARESCAUX, J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. **Annals of Surgery**, v. 239, n. 1, p. 1–11, 2004.

RUBINO, F. et al. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. **Annals of Surgery**, v. 244, n. 5, p. 741–9, 2006.

RUBINO, F. et al. Diabetes surgery: a new approach to an old disease. **Diabetes Care**, v. 32, supl 2, p. S368–S372, 2009.

RUBINO, F. et al. Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: clinical outcomes and mechanisms of action. **Annual Review of Medicine**, v. 61, p. 393–411, 2010.

RUBINO, F. et al. Bariatric, Metabolic, and Diabetes Surgery: What's in a Name? **Annals of Surgery**, v. 00, n. 00, p. 1–6, 2013.

RUNKEL, N. et al. Bariatric Surgery. Clinical Practice Guideline. **Deutsches Arzteblatt**, v. 108, n. 20, p. 341–347, 2011.

SAMPEY, B. P. et al. Cafeteria diet Is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. **Obesity**, v. 19, n. 6, p. 1109–1117, 2011.

SBEM. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabolismo. Projeto Diretrizes. **Diabetes mellitus: classificação e diagnóstico**. 2004.

SCHWARZ, J.-M. et al. Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high-carbohydrate isoenergetic diets. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 1, p. 43–50, 2003.

SHIMIZU, H. et al. Review of metabolic surgery for type 2 diabetes in patients with a BMI < 35 kg/m. **Journal of Obesity**, v. 2012, p. 147256, 2012.

SHIMIZU, H. et al. Bariatric surgery in patients with liver cirrhosis. **Surgery for Obesity and Related Diseases**. V.9, n.1, p. 1-6, 2013.

TAKEUCHI-YORIMOTO, A. et al. Persistent fibrosis in the liver of choline-deficient and iron-supplemented L-amino acid-defined diet-induced nonalcoholic steatohepatitis rat due to continuing oxidative stress after choline supplementation. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 268, n. 3, p. 264–77, 2013.

TARDIDO, A. P.; FALCÃO, M. C. O impacto da modernização na nutricional e obesidade Material e métodos. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 21, n.2, p. 117–124, 2006.

VASQUES, A. C. J. et al. Indicadores do perfil lipídico plasmático relacionados à resistência à insulina. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 3, p. 342–346, 2009.

VERNA, E.C.; BERK, P.D. Role of fatty acids in the pathogenesis of obesity and fatty liver: impact of bariatric surgery. **Seminars in Liver Disease**, v. 28, n. 4, p. 407-426, 2008.

WHITING, D. R. IDF Diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 94, n. 3, p. 311–321, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity – preventing and managing the global epidemic**. Geneva: Report of a WHO Consultation on Obesity, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity and overweight**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>>. Acesso em: 25 out. 2013.

WUESCHER, L. et al. Menin liver-specific hemizygous mice challenged with high fat diet show increased weight gain and markers of metabolic impairment. **Nutrition & Diabetes**, v. 2, n. 5, 2012.

YANG, H. R. et al. Noninvasive parameters and hepatic fibrosis scores in children with nonalcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 13, p. 1525–30, 2012.

YOSHINAGA, M. et al. Metabolic syndrome in overweight and obese Japanese children. **Obesity Research**, v. 13, n. 7, p. 1135–1140, 2005.

5 CAPÍTULO 1: ARTIGO CIENTÍFICO

DUODENAL JEJUNAL BYPASS ATTENUATES NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN WESTERN DIET-OBESSE RATS

Claudia Emanuelli Ebertz^I, Maria Lúcia Bonfleur^{II}, Iala Milene Bertasso^{III}, Mariana Carla Mendes^{IV}, Camila Lubaczeuski^V, Allan Cezar de Freitas Araujo^{VI}, Antônio Marcus Paes^{VII}, Elaine Manoela Porto de Amorim^{VIII}, Sandra Lucinei Balbo^{IX}

I- Fellow Master Degree, Postgraduate Program in Biosciences and Health, State University of Western Paraná (UNIOESTE), Cascavel-PR. Acquisition of data, statistical analysis and interpretation of data.

II- PhD, Assistant professor, Human Physiology Division, Center for Biological Sciences and Health, UNIOESTE, Cascavel-PR. Scholarship research from Araucaria Foundation. Conception, design, intellectual and scientific content of the study and manuscript writing.

III- Graduate student, UNIOESTE, Cascavel-PR. Acquisition and interpretation of data.

IV- Fellow Postgraduate student, Postgraduate Program in Biosciences and Health, UNIOESTE, Cascavel-PR. Acquisition of data.

V- Fellow Master Degree, Postgraduate Program in Biosciences and Health, UNIOESTE, Cascavel-PR. Acquisition and interpretation of data.

VI- PhD, Assistant professor, Division of General Surgery, Center of Medical and Pharmaceutical Sciences, UNIOESTE, Cascavel-PR. Conception, design of the study and surgical procedures.

VII- PhD, Assistant professor, Department of Physiological Sciences, Federal University of Maranhão, São Luis, MA, Brazil. Critical revision.

VIII- PhD, Assistant professor, Histology Division, Center for Biological Sciences and Health, UNIOESTE, Cascavel-PR. Histopathological examinations, interpretation of data and manuscript writing.

IX- PhD, Associate professor, Human Physiology Division, Center for Biological Sciences and Health, UNIOESTE, Cascavel-PR. Conception, design, intellectual and scientific content of the study and surgical procedures.

ABSTRACT

PURPOSE: Bariatric surgeries reduce non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), which is associated with metabolic syndrome co-morbidities; however, the effects of duodenal-jejunal bypass (DJB) have not been investigated. This study aimed to evaluate the effects of DJB on serum and hepatic profiles of obese rats fed on a western diet (WD).

METHODS: Male *Wistar* rats were fed a standard rodent chow diet (CTL group) or WD *ad libitum*. After 10 weeks, WD rats were submitted to sham (WD SHAM) or duodenal-jejunal bypass (WD DJB). Body weight, fat pad depots, glycemia, insulinemia, HOMA-IR, TyG, lipids profile and hepatic analyses were evaluated two months after surgery.

RESULTS: The WD SHAM group presented greater obesity, hyperglycemia, hyperinsulinemia, insulin resistance, hypertriglyceridemia and hepatic steatosis than the CTL group. WD DJB rats presented decreased serum glucose and insulin resistance, when compared to WD SHAM animals, without changes in insulinemia. In addition, DJB surgery normalized serum TG and attenuated TG accumulation and steatosis in the liver of the WD DJB group. Hepatic ACC and FAS protein expressions were similar in all groups.

CONCLUSIONS: DJB attenuates hepatic parameters of NAFLD in obese rats fed on a WD diet.

Key words: Duodenal-jejunal bypass surgery; Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD); Obesity; Western diet rats.

Introduction

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become the most common liver disease worldwide, affecting up to 30% of adults in Western countries and nearly 10% of individuals in developing nations¹. Since NAFLD is strongly associated with obesity², insulin resistance, type 2 diabetes mellitus (T2DM) and dyslipidemia, it has been recognized as the main hepatic manifestation of metabolic syndrome³. The first sign of NAFLD is hepatic triglyceride accumulation (steatosis), which may progressively evolve to non-alcoholic steatohepatitis (NASH), liver inflammation, fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC)⁴.

While pathophysiologic mechanisms of NAFLD are still poorly elucidated, weight reduction has been considered the best treatment for NAFLD⁵. Life-style modifications and physical activity improvements associated, or not, with pharmacotherapy are options for weight loss. However, in cases where behavioral and pharmacological strategies are insufficient, bariatric surgery has offered a powerful alternative to treat both obesity and its comorbidities⁶. In humans, body weight loss after bariatric surgery improves histopathologic features of NAFLD and decreases the risk of progressive liver impairment^{5, 7}. The mechanisms mediating improvements in NAFLD following bariatric surgery are complex and not fully understood, but a diminished insulin resistance and dyslipidemia, paralleled with alterations in gut hormones production, have emerged as the main reasons⁸.

The cafeteria diet- or western diet (WD) is an experimental rodent diet model that more accurately reflects the variety of highly palatable, energy dense foods that are prevalent in Western society and associated with the current obesity pandemic. In this model, animals are allowed free access to standard chow and water while concurrently offered highly palatable, energy dense, unhealthy human foods *ad libitum*⁹. WD promotes rapid weight

gain, fat accumulation, insulin resistance and a fatty liver^{9, 10}. On the other hand, the duodenal-jejunal bypass (DJB), a malabsorptive bariatric surgery described by Rubino, F., 2004¹¹, improves glucose homeostasis in diabetic rodents¹¹ and humans¹². In a recent report, we showed that DJB totally restored insulinemia and insulin sensitivity, and ameliorated beta-cell secretory capacity in WD-obese rats¹³. Nevertheless, few experimental studies have focused on the effects of DJB on NAFLD parameters. Thus, the current study was conducted to determine the effects of DJB on the plasma profile, liver histopathology and protein expression of enzymes involved in fatty acid synthesis in WD obese rats.

Methods

Animals

The experimental procedures are agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Experimentation (CEUA/UNIOESTE protocol number 8709).

Male *Wistar* rats (aged 8 weeks) were divided into three groups: Control group (CTL, n=10), which received a standard rodent chow diet and water *ad libitum*; WD sham operation group (WD SHAM, n=09), which received a WD and soft drink *ad libitum* for all experimental procedures and was submitted to a sham operation after 10 weeks of diet; and WD duodenal-jejunal bypass group (WD DJB, n=09), which received the WD diet for the entire experimental period and was subjected to duodenal-jejunal bypass (DJB) 10 weeks after starting the WD diet. Seven days before and after the surgery, the WD groups received a high-energy liquid diet and the CTL group received standard liquid chow diet.

The rats were housed in standard cages and maintained on a 12 h light/dark cycle (lights on 06:00-18:00 h) and controlled temperature ($22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Duodenal-jejunal bypass (DJB) and Sham surgeries

DJB and SHAM surgeries were performed after 10 weeks of WD feeding. Preoperative procedures were performed as described by Araujo et al. 2012¹³ and DJB was performed as described by Jurowich et al. 2013¹⁴. Briefly, rats were deprived of food for 16-18h and were anesthetized with isoflurane (Isoforine®, Cristália, SP, Brazil). After laparotomy, DJB surgery was performed by postpyloric transection of the duodenum, closure of the duodenal stump, and reconstruction of the intestinal passage by terminal lateral duodenojejunostomy 5cm aboral of the flexura duodenojejunalis. The effectiveness of duodenal ligation was determined by injection of saline through the stomach and observing that no saline passed beyond the area of ligation. In the Sham group, a midline incision in the anterior abdominal wall was made; the stomach, duodenum and intestines were massaged, and the incision was closed. In the DJB group, three rats died due to postoperative complications.

Diet

The CTL group received a standard diet (Biobase, Brazil) comprised of 3.8 kcal/g (70% carbohydrate, 20% protein and 10% fat) and water *ad libitum*. WD SHAM and DJB groups received the high palatable, hypercaloric WD diet, consisting of standard chow (Biobase, Brazil), Italian salami (Sadia, Brazil), mini bread (Nutrella, Brazil), corn snacks (Cheetos, Pepsico, Brazil), marshmallow (Fini, Brazil), mixed sausage (Sadia, Brazil), chocolate cake (Renata, Selmi, Brazil), cookie cornstarch (Zadimel, Brazil), mortadella (Frimesa, Brazil), bacon flavor crisps (Trophy, Helena, Brazil), wafer chocolate (Bauduco, Brazil)

and 350 ml of degassed Coca-Cola daily (Coca-Cola, Brazil) or Guarana (Antarctica, AmBev, Brazil).

Obesity parameters

The animals' body weights were measured during the experimental period (from 8 to 18 weeks after the start of the diet). One week before euthanasia, five animals from each group were maintained in metabolic cages for 3 days to determine food ingestion and stool production during 12 hours. Two months after surgery, all animals were euthanized. Final body weight (BW) and nasoanal length were measured in all groups to obtain the Lee Index [from the ratio of body weight (g)^{1/3}/Nasoanal length (cm) x 1000], which was used as a predictor of obesity in rodents. Retroperitoneal and periepididymal fat pads were removed and weighed.

Plasma biochemical analysis

Triglycerides (TG) and total cholesterol (CHOL) were measured in the fasting (8 hours) state using standard commercial kits, according to the manufacturer's instructions (Laborclin®, Bioliquid, Pinhas, PR, BR). Glucose levels were measured using a glucose analyzer (Abbott®, Optium Xceed, Alameda, CA) and plasma insulin was measured by RIA, using rat insulin standard.

HOMA and TyG index

Tissue insulin sensitivity was also evaluated by the homeostasis model assessment (HOMA), using the HOMA index of insulin resistance [(HOMA-IR) = fasting insulin (U/mL) x fasting glucose (mM)/22.5]. The product of fasting glucose and triglycerides

(TyG) was calculated as the $\text{Ln} [\text{fasting triglycerides (mg/dL)} \times \text{fasting glucose (mg/dL)} / 2]$. The TyG index is expressed in a logarithmic scale.

Histopathology

Liver samples were fixed in 10% formalin, embedded in Paraplast (Sigma Co, Saint Louis, MO), sectioned into slices of seven microns in thickness, and stained with hematoxylin and eosin (H&E). Liver histopathology was examined and graded according to the magnitude of steatosis, based on Brunt's classification with modifications for rodent models. Briefly, steatosis was graded (0-3), as follows: 0, none to 5% of hepatocytes affected; 1, >5% to 30% affected; 2, >30% to 60% affected; and 3, >60% affected.

TG and CHOL content of liver

The liver was weighed and a fragment was removed for determination of the TG and CHOL content. Liver lipids were extracted by the method of Folch. The extract was evaporated and then diluted in isopropanol. TG and CHOL contents were measured as described above.

Protein expression

For protein expression determination, a fragment of liver was solubilized in homogenization buffer at 4°C (containing: 100 mM tris pH 7.5, 10 mM sodium pyrophosphate, 100 mM sodium fluoride, 10 mM EDTA, 10 mM sodium vanadate, 2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride and 1% Triton-X 100) using a Polytron MA 102 generator (model MA 102/Mini; Piracicaba, SP, Brazil). Extracts were then centrifuged at 12,600 *g* at 4°C for 40 min to remove insoluble material. Protein concentration was measured by the Bradford dye method, using BSA to form a standard curve and Bradford reagent (Bio-

Agency Lab., São Paulo, SP, Brazil). For SDS gel electrophoresis and Western blot analysis, the samples were homogenized with loading buffer containing beta-mercaptoethanol. After heating at 95°C for 5 min, the proteins were separated by electrophoresis (150 µg protein/lane, 6.5% gels) and afterwards transferred to nitrocellulose membranes that were subsequently blotted with polyclonal antibodies to Acetyl-CoA carboxylase (ACC, cat. sc-7985R) and Fatty Acid Synthase (FAS, cat. sc-20140, Santa Cruz, CA, USA). α -Tubulin was used as an internal control (1:1,000, cat. T5168, Sigma-Aldrich Chemicals, St Louis, MO, USA). Visualization of specific protein bands was performed by incubating the membranes with goat anti-rabbit secondary antibody (1:10,000; cat. 7074, Cell Signaling Technology, Boston, MA, USA), followed by exposure to X-ray film. The band intensities were quantified by optical densitometry using the free software, Image Tool (<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>).

Statistical analysis

Data are expressed as means $\pm$ SEM accompanied by the indicated number of independent experiments. For statistical analyses, the groups were compared using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey post-test ($P < 0.05$). Graphs were performed using GraphPad Prism version 5.00 for Windows (GraphPad Software®).

Results

Animal features

Results in Figure 1A clearly show that WD SHAM and WD DJB rats had a massive weight gain, which started as early on as two weeks after dietetic intervention, as compared to CTL rats. Following DJB or sham-operation, at week 10, the WD DJB rats presented a transient weight loss during the first post-operative week, which was not sustained. When

body weight was analyzed during the whole period (Figure 1B), the WD SHAM animals demonstrated an increase in this parameter, compared to CTL, and no difference was found between the WD DJB rats and WD SHAM animals. The WD SHAM rats showed an increased food intake in 12 hours (24.50 ± 0.96 g/day, $P < 0.05$), as compared to the CTL group (19.0 ± 1.0 g/day), which was not reversed by DJB (26.80 ± 1.55 g/day, $P < 0.05$). Moreover, stool production for both the WD DJB and WD SHAM animals (0.67 ± 0.23 and 1.23 ± 0.38 g/day, respectively, $P < 0.01$) was lower than those fed a regular chow (3.57 ± 0.30 g/day), $P < 0.01$).

Figure 1

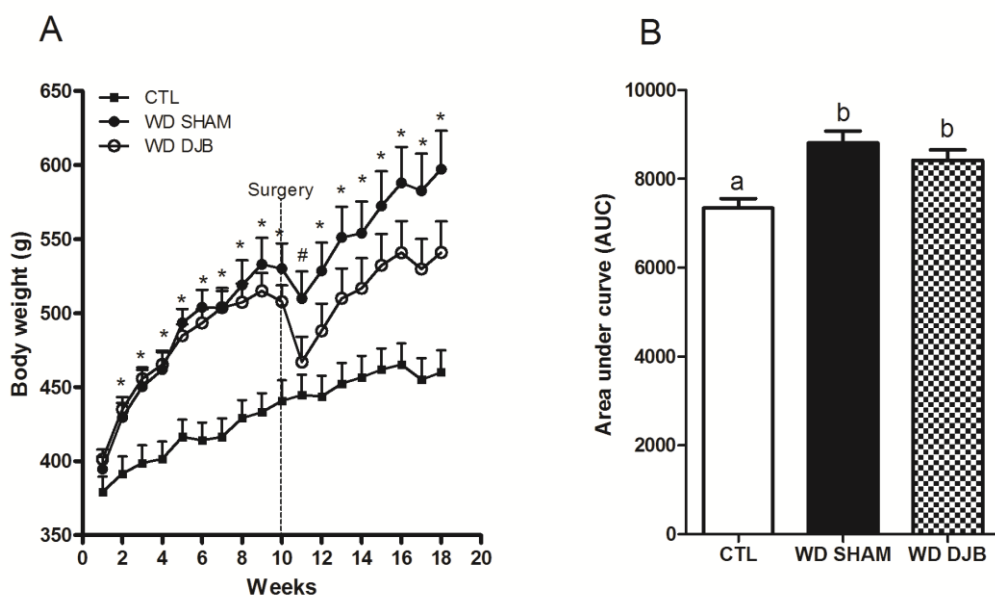


Figure 1. Evolution of body weight during entire experimental period (A) and AUC of body weight in CTL, WD SHAM and WD DJB rats. *WD SHAM and WD DJB vs. CTL. # WD SHAM vs. CTL. One-way ANOVA with Tukey post hoc test. $P < 0.05$. $n = 6-10$.

Notably, DJB surgery attenuated white adipose tissue accumulation in WD DJB rats, since their retroperitoneal and perigonadal fat pads did not differ from those of either WD

SHAM or CTL rats (Tab. 1). The combination of these alterations resulted in a decrease of 4% in the Lee Index of the WD DJB rats, as compared to the WD SHAM rats (Tab. 1), two months after surgery.

Table 1. Obesity parameters in CTL, WD SHAM and WD DJB rats.

	CTL	WD SHAM	WD DJB
Final Body weight (g)	447±14 ^a	591±27 ^b	545±21 ^b
Lee index	320±2.30 ^a	340±2.40 ^b	326±4.60 ^a
Retroperitoneal fat pad (% BW)	2.4±0.23 ^a	3.72±0.14 ^b	3.0±0.15 ^{ab}
Perigonadal fat pad (% BW)	1.7±0.15 ^a	2.6±0.12 ^b	2.2±0.18 ^{ab}

Data are means ± SEM (n =6-10). Different letters indicate significant difference. One-way ANOVA with Tukey post hoc test (P < 0.05).

Biochemical parameters and insulin resistance

WD SHAM animals presented hypertriglyceridemia, when compared to CTL rats (Fig. 2A, P<0.01); furthermore, DJB surgery normalized fasting TG levels after two months. Total CHOL was similar in all groups (Fig. 2B). The fasting glucose and insulin levels were higher in the WD SHAM than CTL animals (Fig. 2C and D, respectively, P<0.001). There was a significant improvement in fasting glucose in the WD DJB group (P<0.05) despite insulinemia being similar to that of the WD SHAM animals. To reinforce these findings, we investigated insulin resistance using HOMA-IR and the TyG index. The WD SHAM rats demonstrated an increase in HOMA-IR and in the TyG index, compared to the CTL group (Fig. 2E and F, respectively, P<0.001); DJB surgery normalized these parameters in WD DJB animals, compared to the WD SHAM group (P<0.05 and P<0.01, respectively). Taken together, these results indicate that WD feeding induced metabolic changes

compatible with the features of metabolic syndrome, which were partially restored two months after DJB surgery despite the maintenance of the cafeteria diet.

Figure 2

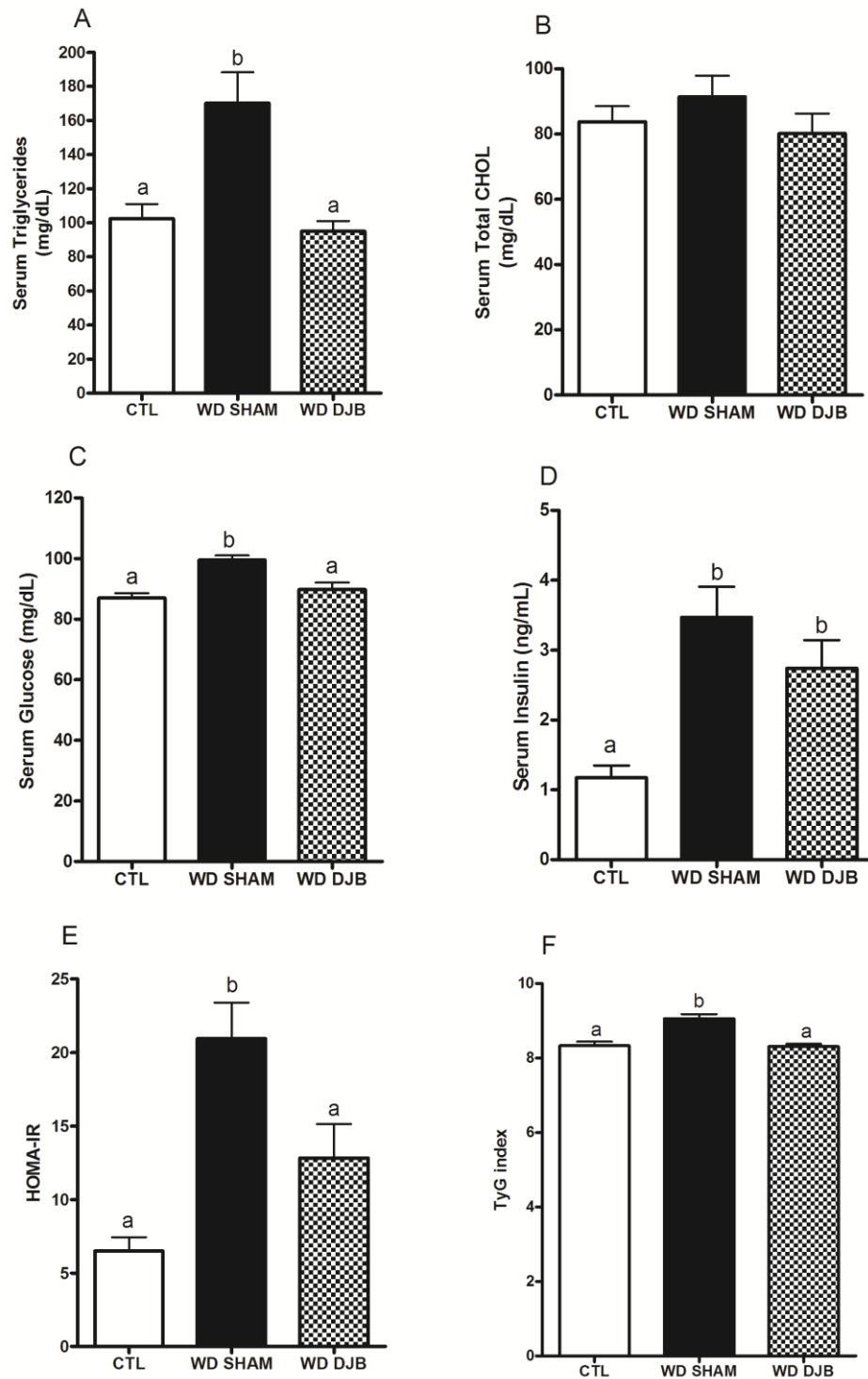


Figure 2. Fasting serum level of triglycerides (A) total cholesterol (B), glucose (C) and insulin (D). HOMA-IR (E) and TyG index (F) in CTL, WD SHAM and WD DJB rats. Different letters indicate significant difference. One-way ANOVA with Tukey post hoc test. $P < 0.05$. $n = 6-10$.

Histological analyses of liver

We next evaluated the impact of DJB on liver histological patterns and the fat accumulation of WD obese rats. Histological analysis of the CTL and WD livers, according to the Brunt's NAFLD score, revealed that all the WD SHAM obese rats had grade 1 or 2 fatty degeneration (Tab. 2), mainly characterized by microvacuolar steatosis (Figure 3C and D, respectively). No changes were found in the CTL rats (Figure 3A and B, respectively and Tab. 2). Importantly, approximately 30% of WD DJB rats had no steatosis (Tab. 2), demonstrating the effectiveness of DJB for ameliorating fat degeneration (Figure 3E and F, respectively). Other NAFLD/NASH features, such as ballooning or inflammation were not detected in any group. To reinforce histological analyses, after 18 weeks of WD feeding, WD SHAM rats were found to present increased liver weight and TG content, without any effect on CHOL content (Figure 3G, H and I, respectively, $P < 0.001$ and $P < 0.01$). WD obese rats submitted to DJB had lower liver TG levels than those of the WD SHAM rats, although these levels were still significantly higher than those of CTL rats. No effects of DJB were observed on either liver weight or on CHOL content (Figure 3G and I, respectively).

Table 2 – Degree of steatosis in the liver of rats CTL, WD SHAM and WD DJB.

Groups	Degree 0	Degree 1	Degree 2
CTL	100%	0%	0%
WD SHAM	0%	50%	50%
WD DJB	28,6%	28,6%	42,8%

N=4-7.

Figure 3

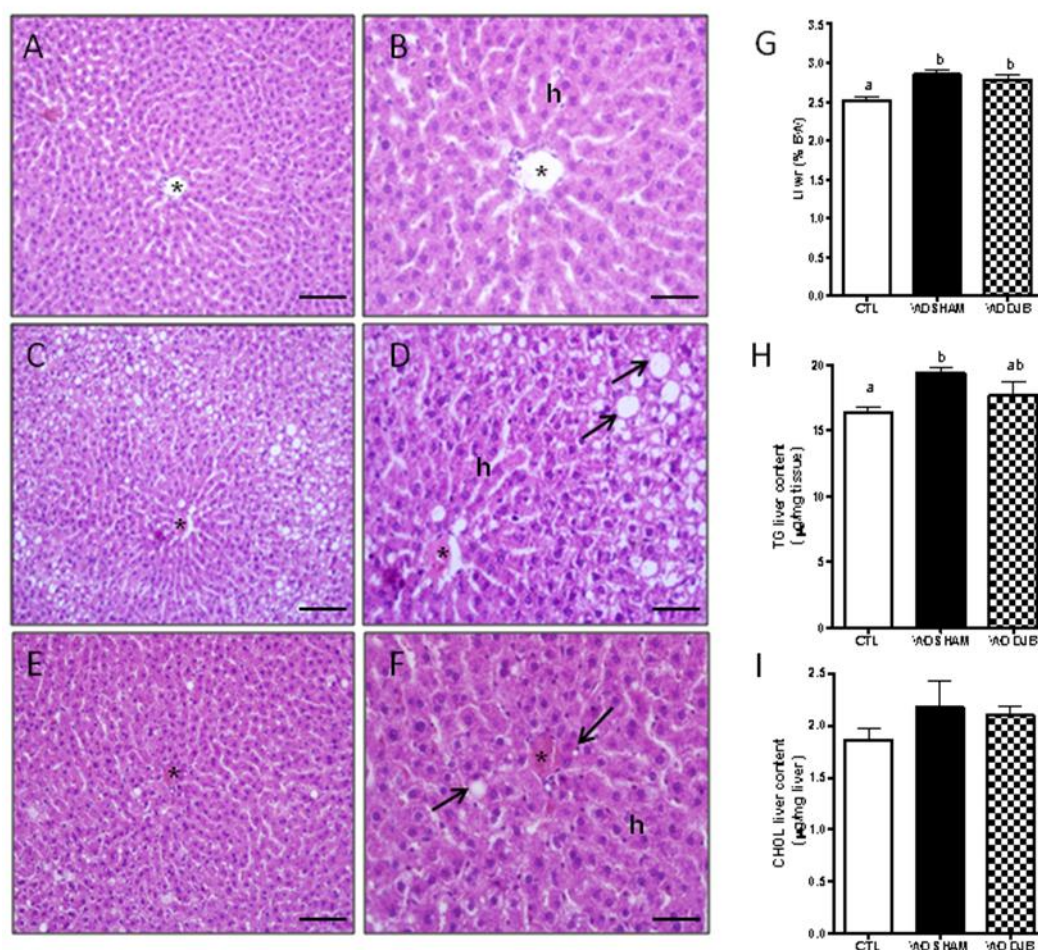


Figure 3. Representative photomicrographs of hematoxylin and eosin-stained sections of livers from CTL (A,B), WD SHAM (C, D) and WDDJB (E,F) animals. Arrows indicate steatosis. *: central veins; h: hepatocytes. Figures A, C, E: Bars=100μm. Figures B, D, F

Bars= 50 μ m. (G) Liver weight, (H) TG and (I) CHOL liver content in CTL, WD SHAM and WD DJB animals. Different letters indicate significant difference. One-way ANOVA with Tukey post hoc test. $P < 0.05$. $n = 6-10$.

Protein expression

In order to explain the improvement in steatosis in WD obese rats submitted to DJB surgery, we investigated the expressions of enzymes involved in fatty acid synthesis. We observed that hepatic ACC and FAS protein expressions were similar in all groups (Figure 4A and B, respectively).

Figure 4

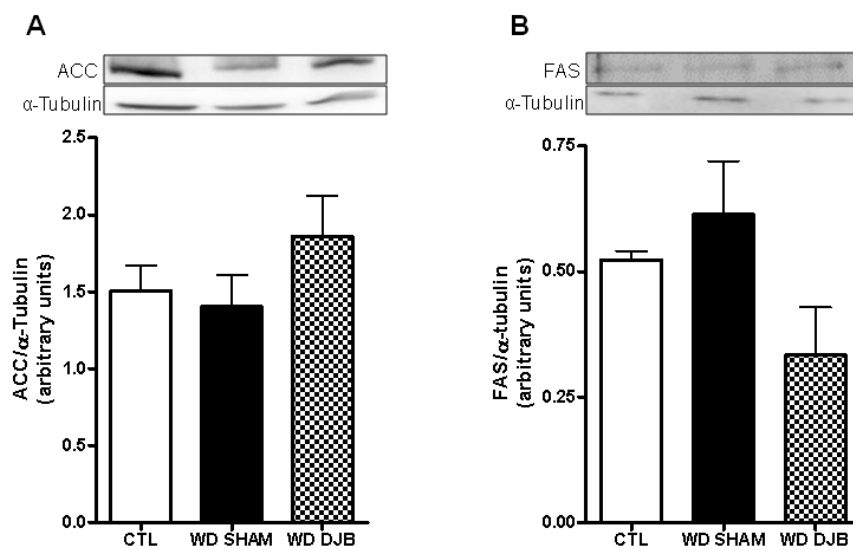


Figure 4. Protein expression of ACC (A) and FAS (B) in the liver of CTL, WD SHAM and WD DJB animals. One-way ANOVA with Tukey post hoc test. $P < 0.05$. $n = 3-4$.

Discussion

Different techniques of bariatric surgery lead to improvements in steatosis, inflammation and fibrosis^{5, 15}, however, there are no reports demonstrating the effect of DJB on NAFLD. Therefore, in the present study, we used WD obese rats to demonstrate the effects of the DJB on NAFLD.

WD is known to promote obesity and features of T2DM in rats^{9, 13} and provides a highly relevant model for studies on diet-induced metabolic syndrome. WD was found to effectively induce obesity, hyperglycemia, hyperinsulinemia, insulin resistance, hypertriglyceridemic and hepatic steatosis. Currently, hepatic steatosis is considered the most common chronic liver disease and its incidence has grown in parallel with the pandemic rates of obesity and metabolic syndrome². In both humans¹⁵ and rodents⁹, TG accumulation in hepatocytes is the main factor in the development of hepatic steatosis. Many studies have consistently shown that TG accumulation is due to insulin resistance, which also causes increased VLDL secretion¹⁶. Data herein presented show that WD SHAM rats had a higher liver TG content and steatosis, which were associated with hyperinsulinemia and insulin resistance. Nevertheless, the assessment of liver insulin resistance, via TyG Index calculation, showed that WD SHAM animals were more resistant than CTL rats.

At two months after DJB surgery, partial reductions in retroperitoneal and perigonadal fat accumulation were observed, as well as improved glycemia and insulin sensitivity, without modifications in body weight and fasting insulin. Ours results are in accordance with others reporting that DJB surgery is characterized as a malabsorptive bariatric procedure that improves glucose homeostasis in genetically and diet-induced obesity^{11, 13, 14} without changing body weight.

Weight loss is effective for improving NASH^{5, 7}; many options are available to induce weight loss, but bariatric surgery is the most effective therapy available, causing a reduction of about 20-30% in body weight. Approximately, 70% of patients referred for bariatric surgery have NAFLD and 25% present NASH; of these, half have advanced fibrosis and 1-2% has cirrhosis¹⁷. Different bariatric surgery techniques can be used to treat obesity and also lead to improvements in steatosis, inflammation and fibrosis⁵, but, the effect of the DJB on NAFLD has not been investigated to date. For the first time, we demonstrate that DJB attenuated TG liver content and steatosis and totally restored triglyceridemia in rats submitted to a cafeteria diet. Since no changes in body weight and serum insulin levels were observed in WD DJB rats, when compared to WD SHAM animals WD (Fig. 1, Tab. 2, respectively), we suggest that other factors may be associated with the improvement in hepatic steatosis in these animals. Patients undergoing biliopancreatic diversion, adjustable gastric banding or Roux-en-Y gastric bypass showed improvements in steatosis and ballooning degeneration, which were associated with changes in insulin sensitivity^{15, 18}. Since DJB surgery improved insulin resistance and hyperglycemia in our rats, we suggest that these factors may contribute to the partial reduction in the total content of hepatic TG and the histological changes observed in WD DJB animals, independently of weight loss.

NAFLD can be caused by multiple factors, including lipolysis from fat cells, increased intake of dietary fat, and the impairment of fatty acid beta oxidation by mitochondrial dysfunction¹⁹. In addition, fatty acid synthesis by de novo lipogenesis in the liver contributes greatly to hepatic steatosis in obesity and diabetes²⁰. Hepatic protein expression of ACC, which converts acetyl-CoA to malonyl-CoA and FAS, which use malonyl-CoA to form palmitic acid, were not altered by WD-obesity or DJB surgery (Fig. 4). Other enzymes involved in fatty acid synthesis, as well as beta oxidation should be investigated.

Conclusions

DJB surgery, in WD rats that closely resemble the overfed human state, presented normalized serum TG, attenuated TG liver content and steatosis without modification in body weight, despite the maintenance of the cafeteria diet. This occurred possibly due to the improvement in insulin resistance in WD DJB rats, compared to the WD SHAM groups, without changes in ACC and FAS protein expression. Additional experiments are needed to demonstrate the mechanisms that contribute to improvements in NAFLD in WD rats submitted to DJB surgery.

Acknowledgments

We are grateful to Assis Roberto Escher for animal care and Nicola Conran for editing English.

References

1. Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis*. 2010 May;28(1):155-61. doi: 10.1159/000282080.
2. Yilmaz Y, Younossi ZM. Obesity-associated nonalcoholic Fatty liver disease. *Clin Liver Dis*. 2014 Feb;18(1):19-31. doi: 10.1016/j.cld.2013.09.018.
3. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2001 Aug;50(8):1844-50. doi: 10.2337/diabetes.50.8.1844.
4. Charlton M. Nonalcoholic fatty liver disease: a review of current understanding and future impact. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004 Dec;2(12):1048-58. doi: 10.1053/S1542-3565(04)00440-9.

5. Rabl C, Campos GM. The impact of bariatric surgery on nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis.* 2012 Feb;32(1):80-91. doi: 10.1055/s-0032-1306428.
6. Rubino F, Kaplan LM, Schauer PR, Cummings DE. The Diabetes Surgery Summit consensus conference: recommendations for the evaluation and use of gastrointestinal surgery to treat type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg.* 2010 Mar; 251(3):399-405. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181be34e7.
7. Mummadi RR, Kasturi KS, Chennareddygar S, Sood GK. Effect of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008 Dec;6(12):1396-402. doi: 10.1016/j.cgh.2008.08.012.
8. Hafeez S, Ahmed MH. Bariatric surgery as potential treatment for nonalcoholic fatty liver disease: a future treatment by choice or by chance? *J Obes.* 2013;2013:839275. doi: 10.1155/2013/839275.
9. Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring).* 2011 Jun;19(6):1109-17. doi: 10.1038/oby.2011.18.
10. Martire SI, Holmes N, Westbrook RF, Morris MJ. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. *PLoS One.* 2013;8(4):e60407. doi: 10.1371/journal.pone.0060407.
11. Rubino F, Marescaux J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg.* 2004 Jan;239(1):1-11. doi: 10.1097/01.sla.0000102989.54824.fc

12. Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G, Castagneto M, Marescaux J. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Ann Surg.* 2006 Nov;244(5):741-9. doi: 10.1097/01.sla.0000224726.61448.1b
13. Araujo AC, Bonfleur ML, Balbo SL, , Ribeiro RA, de Freitas AC. Duodenal-jejunal bypass surgery enhances glucose tolerance and beta-cell function in Western diet obese rats. *Obes Surg.* 2012 May;22(5):819-26. doi: 10.1007/s11695-012-0630-3.
14. Jurowich CF, Rikkala PR, Thalheimer A, Wichelmann C, Seyfried F, Sander V, Kreissl M, Germer CT, Koepsell H, Otto C. Duodenal-jejunal bypass improves glycemia and decreases SGLT1-mediated glucose absorption in rats with streptozotocin-induced type 2 diabetes. *Ann Surg.* 2013 Jul;258(1):89-97. doi: 10.1097/SLA.0b013e3182890311.
15. Mathurin P, Hollebecque A, Arnalsteen L, Buob D, Leteurtre E, Caiazzo R, Pigeyre M, Verkindt H, Dharancy S, Louvet A, Romon M, Pattou F. Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease. *Gastroenterology.* 2009 Aug;137(2):532-40. doi: 10.1053/j.gastro.2009.04.052.
16. Matherly SC, Puri P. Mechanisms of simple hepatic steatosis: not so simple after all. *Clin Liver Dis.* 2012 Aug;16(3):505-24. doi: 10.1016/j.cld.2012.05.005.
17. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology.* 2001 Jul;121(1):91-100. doi:10.1053/gast.2001.25540.

18. Mathurin P, Gonzalez F, Kerdraon O, Leteurtre E, Arnalsteen L, Hollebecque A, Louvet A, Dharancy S, Cocq P, Jany T, Boitard J, Deltenre P, Romon M, Pattou F. The evolution of severe steatosis after bariatric surgery is related to insulin resistance. *Gastroenterology*. 2006 May;130(6):1617-24. doi:10.1053/j.gastro.2006.02.024.
19. Koo SH. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis. *Clin Mol Hepatol*. 2013 Sep;19(3):210-5. doi: 10.3350/cmh.2013.19.3.210.
20. Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus. *J Biol Chem*. 1999 Oct 15;274(42):30028-32.

***Correspondence to** Maria Lúcia Bonfleur
Cascavel, PR, Brazil CEP: 85819-110

E-mail: mlbonfleur@hotmail.com

Phone/Fax: +55 45 3220 3257

Research performed at Endocrine Physiology and Metabolism Laboratory, Center for Biological Sciences and Health, UNIOESTE, Cascavel-PR. This study is part of M.Sc Thesis of Claudia Emanuelli Ebertz, Postgraduate Program in Biosciences and Health. Tutor: Sandra Lucinei Balbo.

Conflict of interest

All contributing authors declare that they have no conflicts of interest.

Financial source

This study was supported by grants from Araucária Foundation and Coordination of Improvement for Higher Academic Staff (CAPES).

ANEXOS

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO CEEAAP


unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

 Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
 Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
 Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
 Marechal Cândido Rondon - PR.


Estado do Paraná

Comitê de ética na experimentação animal e aulas práticas – CEEAAP/UNIOESTE

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 8709, sob o título : “*Regulacao da secrecao de insulina em ratos obesos submetidos a derivação duodeno-jejunal*”, sob a responsabilidade de *Maria Lúcia Bonfleur*, tendo como período de realização início em 03/2009 e término 02/2012, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal a Aulas Práticas (CEEAAP/Unioeste) em reunião realizada em 03 de dezembro de 2009, conforme Ata nº 112009.

 Marechal Cândido Rondon, PR., 18/12/2009

 Coordenadora do CEEAAP/Unioeste
 PORTARIA Nº 2618/2008 - GRE

 DRª PATRICIA BARCELLOS COSTA
 Médica Veterinária
 CRMV/PR 07950

ANEXO B – CERTIFICADO DE PRORROGAÇÃO DO PROJETO PELO CEEAAP



CAMPUS DE CASCAVEL

RUA UNIVERSITÁRIA, 2069 - JD. UNIVERISTÁRIO - FONE: (45) 3220-3000 - CEP 85819-110 -
CASCAVEL - PR



Comitê de ética na experimentação animal e aulas práticas – CEEAAP/UNIOESTE

Concedemos a prorrogação do término do projeto do Protocolo nº 87/09 sob o título **“Regulação da secreção de insulina em ratos obesos submetidos à derivação duodeno-jejunal”**, sob a responsabilidade da professora Dra. **Maria Lúcia Bonfleur**, para 31/12/2012.

Cascavel, 18 de maio de 2011.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Maria Lúcia Bonfleur', is written over a faint, circular official stamp.

Dra. Maria Lúcia Bonfleur
Coordenadora do CEEAAP/UNIOESTE
Portaria Nº0903/2011-GRE

ANEXO C – CERTIFICADO DE PRORROGAÇÃO DO PROJETO PELO CEEAAP



PARECER DE PROTOCOLO

A solicitação de prorrogação de prazo do protocolo intitulado "Regulação da secreção de insulina em ratos obesos submetidos à derivação duodeno-jejunal", sob vossa coordenação, foi avaliado pelo CEUA como **APROVADO**.

ATENÇÃO!

O Certificado Experimental deste Protocolo, somente será emitido após o encerramento das atividades previstas e após o encaminhamento do Relatório Final ao CEUA. Este Parecer **NÃO** tem valor como Certificado Experimental.

Cascavel, 09/04/2013



Profa. Dra. Luciana Oliveira do Fariña
Coordenadora do CEUA
Portaria nº 2861/2012-GRE

ANEXO D – NORMAS DA REVISTA

**ACTA
CIRÚRGICA
BRASILEIRA**

ISSN 0102-8650 *printed
version*
ISSN 1678-2674 *online
version*

INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS

- [Scope and policy](#)
- [Organizing electronic manuscript](#)

Scope and policy

The Journal Acta Cirurgica Brasileira has rule, norm, standard and style. Follow Instructions to the Authors available from www.scielo.br/acb (English) and observe models of published articles.

Manuscript that does not comply with these instructions is not accepted.

The Journal follows - INTERNATIONAL COMMITTEE OF MEDICAL JOURNAL EDITORS - ICMJE. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Ethical Considerations in the Conduct and Reporting of Research: www.icmje.org

Authorship

The Journal considers all article participants as authors.

Authorship credit should be based on substantial contributions. An author must take responsibility for at least one component of the work:

1. substantive scientific and intellectual contributions to the study;
2. responsible for conception and design;
3. responsible for manuscript preparation;
4. acquisition of data, or analysis and interpretation of data;
5. manuscript writing;
6. critical revision;
7. final approval of the version to be published.

Contributors who not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgments section (Ex.: Persons who provided purely technical help or general support). Cite the

responsible for English language version.

Acta Cirúrgica Brasileira is a peer-reviewed journal and publishes articles on surgical research. Articles are submitted for review by experts who are not part of the editorial staff. The journal has national and international boards of consultants. Each manuscript is read by the Editor and one of the Associate Editors. Together, they decide whether to send the paper to outside reviewers. Rejected manuscripts are returned to authors. Editor-in-Chief has full authority over the editorial content of the journal.

The journal does not accept case reports/retrospective studies/review articles.

Must be submitted manuscripts resulted from experimental surgery.

The Editors of **Acta Cirúrgica Brasileira** welcome systematic reviews and meta-analysis and they will be regarded for publication when a surgical topic of current interest is addressed. All meta-analysis of randomized trials must adhere to guidelines outlined in the QUORUM statement (Lancet 1999;354:1896-1900) and a suitable QUORUM flow chart must be included in the submission.

Manuscript must be delivered by e-mail to the chief editor [sgolden@terra.com.br], written in English language.

Organizing electronic manuscript

First page

The title page must contain: a) the title of the article (in English and in Portuguese), which should be concise but informative. Insert the number one superscript (Arabic) indicating, after the References, where research was performed (laboratory, research center, division, department and institution).

Affiliation

Full name of all the authors with the sequence number superscript (Roman) indicating below:

- a) the highest academic degree(s)
Access www.scielo.br/acb Acta Cir Bras. 2006;21(2):60 Mar-Abr. Academic degrees examples
- b) the name of division/department and institution Follow examples of published articles.

ABSTRACT

Must not exceed 200 words and should be presented in a structured format:

Purpose: The main aim of the study or investigation.

Methods: Selection of subjects (patients or experimental animals); Basic procedures.

Results: Main findings (giving specific data and their statistical significance).

Conclusion: state the main answer concerning the purpose of the study.

Key words: should be provided based on Medical Subject Headings - Mesh (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>).

Manuscript format

Introduction

Clearly state the subject and the purpose of the study. Give only pertinent citations, and do not review the subject extensively.

Methods

Describe your selection of the observational or experimental subjects (patients or laboratory animals, including controls) clearly (quantity and quality). Identify all procedures in sufficient detail. Identify precisely all drugs and chemicals used, **including generic name(s)**, dosage(s), and route(s) of administration. Do not use patient's names, initials, or hospital numbers. Describe statistical procedures with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. Authors are responsible for the accuracy of their report including all statistical calculations and drug doses.

ETHICS

When reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures were in accord with the Ethical Committee on Human Experimentation of the Institution in which the experiments were done or in accord with the Helsinki Declaration of 1975 as revised in 2008 [World Medical Association (www.wma.net/e/policy/b3.htm)]. Patients have a right to privacy that should not be infringed without informed consent. Obligation to register clinical trials in a public trials registry established by the World Health Organization. Identification number at the end of

abstract [CONSORT - Consolidated Standards of Reporting Trials (www.consort-statement.org) and International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP).

When reporting experiments on animals, indicate that the use of laboratory animals follow the Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS) ethical code for animal experimentation (WHO Chronicle 1985; 39(2):51-6)

The journal reserves the right not to accept an article on the grounds that appropriate ethical or experimental standards have not been reached.

Results

Present the results in logical sequence in the text, using table, chart and figure. Do not repeat in the text, all the data in the tables, chart and figures. In the text, emphasize or summarize only important findings. Include the statistical significance.

Tables: Are numbered in sequence (use arabic numerals), and supply a brief title for each at **the top**. Use only approved abbreviations. Explain in footnotes all non standards abbreviations that are used in each table. Must be without vertical lines.

Chart: Is descriptive and closed. title at **the top**.

Figures [illustrations, photos, graphics]: must be with good quality. Numbered in sequence (use arabic numerals). The legends must be **in the bottom** of the figure.

Discussion

Emphasize the new and important aspect of the study
Compare the method and the results with those formerly published. DO NOT REPEAT RESULTS.

Conclusion

Must be clear and concise. Link the conclusion with the goals of the study. AVOID CONCLUSIONS NOT SUPPORTED ON DATA.

Acknowledgments

Acknowledge only persons who have made substantial contributions to the study.

References

Follow model of published article

The journal follow the Vancouver style:

**UNIFORM REQUIREMENTS FOR MANUSCRIPTS
SUBMITTED TO BIOMEDICAL JOURNALS of the
International Committee of Medical Journal
Editors (www.icmje.org).**

All references should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned by superscript in the text.

List all the authors, "**et al**" is not accepted.

Abbreviations of journals should conform to those used in MEDLINE/PubMed.

The article must have at a maximum of 20 references.

References to abstracts, personal communications and books is discouraged. Books are not indexed. Reference to unpublished communications will not be accepted.

Examples of references are given below:

Journal article

List all authors

You must not repeat a set of ten, one hundred or thousand in the final page.

Fogarty BJ, Parks RW, Rowlands BJ, Diamond T. Renal dysfunction in obstructive jaundice. Br J Surg. 1995 **Jul**;82(7):877-84.

Fickert P, Krones E, Pollheimer MJ, Thueringer A, Moustafa T, Silbert D, Halilbasic E, Yang M, Jaeschke H, Stokman G, Wells RG, Eller K, Rosenkranz AR, Eggertsen G, Wagner CA, Langner C, Denk H, Trauner M. Bile acids trigger cholemic nephropathy in common bile-duct-ligated mice. *epatology*. 2013 Dec;58(6):2056-69. doi: 10.1002/hep.26599. Epub 2013 Oct 15.

Correspondence:

Name, address

Phone/Fax, e-mail of author.

Declare conflict of interest.

Inform the source(s) of support.

Inform where research was performed (laboratory, research center, division, department and institution.

PROCEDURES OF THE JOURNAL

1. The article will be examined to verify whether it complies with the journal's instructions; **Manuscripts that do not conform to the requirements and style of the journal will be returned for recasting. Do an accurately revision of the manuscript before sending it;**
2. The article will be submitted to peer-review for analysis and approval, in addition to approval by the Editors;
3. After approval, the manuscript will be published according to the date of submission.

The Editors retain the right to alter style and shorten material for publication.

PLEASE, CONSULT RECENT ISSUES OF THE JOURNAL available from www.scielo.br/acb

Copyright to Acta Cirurgica Brasileira

This statement must be sent in a separate letter to the editor together with the paper and **must be signed by all authors**. Submissions received without a signed copyright statement will not be acceptable. The main author is responsible for ensuring that all authors have seen, approved and are fully conversant with its contents.

Copyright transfer

The authors undersigned transfer copyright of the article

name of article

to Acta Cirúrgica Brasileira. They declare that this is an original unpublished article that does not transgress any copyright or intellectual property rights of other people and it **is not being evaluated for publication in other journals**. The article has been read and each contribution was approved.

Names of authors

date

Article that do not comply with these instructions is not accepted

Manuscript Fees:

In order to participate in publication costs, authors have a charge of US400.00 for each accepted manuscript. Please send payment order to:

Beneficiary Customer:

SOCIEDADE BRASILEIRA DESENVOLVIMENTO PESQ
CIRURGIC SOBRADPEC

ALAMEDA RIO CLARO , 179 AP 141

CNPJ: 57.860.488/0001-44

Account number: 001189880000091618

Beneficiary Bank: BANCO DO BRASIL S.A.

São Bernardo do Campo (SP) Brasil

BIC SWIFT: BRASBRJ3BO

**Address: RUA SÃO BENTO, 465 5º ANDAR, CENTRO
SÃO PAULO SP**

Through: BANCO DO BRASIL S.A.

New York - USA

BIC SWIFT: BRASUS33

ABA: FW026003557

**FURTHER INFORMATION OR QUESTIONS PLEASE
CONTACT PROF. SAUL GOLDENBERG**

Editor-in-Chief

sgolden@terra.com.br

[[Home](#)] [[About this journal](#)] [[Editorial board](#)] [[Subscription](#)]



All the content of the journal, except where otherwise noted, is licensed under a [Creative Commons License](#)

**Al. Rio Claro, 179/141 - 14º and.
01332-010 São Paulo SP Brasil
Tel./Fax: +55 11 3287-8814**



sgolden@terra.com.br