
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA
MESTRADO EM MEDICINA/PEDIATRIA

“Avaliação da ecogenicidade hepática
através de análise computadorizada
em crianças obesas e eutróficas”

Ricardo Bernardi Soder
ricsoder@gmail.com

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Medicina da PUCRS para
Obtenção do título de Mestre em
Medicina/Pediatria.

Orientador: Prof. Dr. Matteo Baldisserotto

Porto Alegre, 2008

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

S679a Soder, Ricardo Bernardi

Avaliação da ecogenicidade hepática através de análise computadorizada em crianças obesas e eutróficas / Ricardo Bernardi Soder. Porto Alegre: PUCRS, 2008.

50 f.: il. tab.

Orientação: Prof. Dr. Matteo Baldisserotto.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Mestrado em Pediatria.

1. FÍGADO/ultrasonografia. 2. ABDOME/ultrasonografia. 3. FÍGADO GORDUROSO. 4. HEPATOPATIAS. 5. OBESIDADE. 6. CRIANÇA. 7. ESTUDOS DE CASOS E CONTRÔLES. 8. TÉCNICAS E PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS. I. BALDISSEOTTO, MATTEO. II. Título.

C.D.D. 616.362
C.D.U. 616.36-053.2:575 (043.2)
N.L.M. WI 700

Rosária Maria Lúcia Prena Geremia
Bibliotecária CRB 10/196

MESTRANDO: RICARDO BERNARDI SODER

Endereço: AV MARILAND, 1372/501 – PORTO ALEGRE/RS

CEP: 90440-190 – BAIRRO: MONT SERRAT

e-mail: ricsoder@gmail.com

TELEFONE: (51) 33332751

ÓRGÃO FINANCIADOR: CAPES

CONFLITO DE INTERESSE: NENHUM

Dedicatória

Aos meus pais, pelo incentivo e apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Matteo Baldisserotto, pela sua sabedoria, paciência e disponibilidade, que me permitiram crescer como pesquisador. Também agradeço pela oportunidade e incentivo, que possibilitaram alcançar meu objetivo.

À doutoranda Caroline Lorenzoni Almeida, por sua competência e eficiência na coleta de dados.

Ao Prof. Dr. Mário Wagner, pela substancial ajuda na análise dos dados e cálculos estatísticos.

Às Dras. Cláudia de Souza Piccoli e Jacqueline Rizzoli, pelo importante colaboração no estudo.

Aos funcionários do Serviço de Ecografia, pela contribuição logística e eficiência.

À Sra. Carla Rothmann, secretária da pós-graduação, por sempre estar disposta a ajudar.

À CAPES, pelo bolsa de incentivo à pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii

CAPÍTULO I

1 REFERENCIAL TEÓRICO	2
1.1 INTRODUÇÃO.....	2
1.2 Esteatose Hepática.....	3
1.3 Fisiopatologia.....	4
1.4 Exames de Imagem.....	5
1.4.1 Ultra-sonografia.....	6
1.4.2 Tomografia Computadorizada	10
1.4.3 Ressonância Magnética	11
1.5 Biópsia Hepática	12

2 JUSTIFICATIVA.....	14
3 OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo Principal	17
3.2 Objetivo Secundário	17
4 REFERÊNCIAS	18

CAPÍTULO II

5 MATERIAIS E MÉTODOS	24
5.1 Validação da Técnica Ultra-sonográfica	24
5.2 População em Estudo.....	25
5.3 Dados Antropométricos	26
5.4 Exames Laboratoriais	26
5.5 Técnica de Ultra-sonografia Hepática com Análise Computadorizada ...	26
5.6 Análise Estatística	28

CAPÍTULO III

ARTIGO ORIGINAL	31
------------------------------	-----------

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES.....	37
-----------------	----

CAPÍTULO V

FIGURAS DO ARTIGO	40
-------------------------	----

ANEXOS

Anexo 1 - Carta de Aprovação do Comitê de Ética da PUCRS	47
Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre Esclarecido	48
Anexo 3 - Análise Ultra-Sonográfica da Ecogenicidade Hepática em Crianças Obesas.....	50

APÊNDICE

Apêndice 1 – Banco de dados.....	ii
---	----

LISTAS DE TABELAS

CAPÍTULO III

Table 1 – Laboratory findings	35
--	----

CAPÍTULO V

Table 1 – Laboratory findings	45
--	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1** - Ultra-sonografias de pacientes sem esteatose (imagem esquerda) e com esteatose hepática (imagem direita). CR = Córtex Renal.
Fig=Fígado..... 8

CAPÍTULO III

- Figure 1** - Digital sonogram of hepatorenal interface for computer-assisted calculation of hepatorenal index (IHR). L = Liver;
RK = Right Kidney..... 32
- Figure 2** - Liver and kidney echogenicity values of normal-weight and obese Children..... 33
- Figure 3** - Normal-weight 9-year-old child sonogram. L = Liver; RK = Right Kidney 33
- Figure 4** - Obese 10-year-old child sonogram. L = Liver; RK = Right Kidney... 33
- Figure 5** - Hepatorenal index of normal-weight and obese children. 34

CAPÍTULO V

- Figure 1** - Digital sonogram of hepatorenal interface for computer-assisted calculation of hepatorenal index (IHR). L = Liver;
RK = Right Kidney..... 40
- Figure 2** - Liver and kidney echogenicity values of normal-weight and obese Children..... 41
- Figure 3** - Normal-weight 9-year-old child sonogram. L = Liver; RK = Right Kidney 42
- Figure 4** - Obese 10-year-old child sonogram. L = Liver; RK = Right Kidney... 43
- Figure 5** - Hepatorenal index of normal-weight and obese children. 44
-

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Teste Análise de Variância
EENA	Esteatoepatite não-alcoólica
EH	Esteatose Hepática
EHNA	Esteatose Hepática não-alcoólica
IC	Intervalo de Confiança
IHE	Índice Hepato-Esplênico
IHR	Índice Hepatorrenal
IMC	Índice de Massa Corporal
NCHS	National Center for Health Statistics
OMS	Organização Mundial da Saúde
RM	Ressonância Magnética
ROI	Region of interest
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TC	Tomografia Computadorizada
UH	Unidades de Hounsfield

RESUMO

OBJETIVOS: Até o momento, não existe um método simples que avalie a ecogenicidade hepática por análise computadorizada. O objetivo desse estudo é propor uma metodologia acessível e reprodutível para quantificação da ecogenicidade hepática em crianças obesas e eutróficas através de análise computadorizada, estabelecendo uma correlação com os exames laboratoriais.

MATERIAIS E MÉTODOS: O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de nossa instituição e todos os pais ou responsáveis legais pelas crianças assinaram o termo de consentimento para participar do estudo. Vinte e duas crianças entre 6 e 11 anos foram alocadas em dois grupos de 11 crianças, emparelhadas por sexo e idade. Todas as crianças realizaram ultra-sonografia abdominal, medidas antropométricas e exames laboratoriais. Utilizou-se um programa de análise computadorizada de imagens (ImageJ) para calcular o índice hepatorrenal (IHR), que representa a diferença de ecogenicidade entre o parênquima hepático e o córtex renal. Para análise estatística, foram utilizados o teste t de Student e o teste de Mann-Whitney.

RESULTADOS: O IHR foi estatisticamente diferente entre as crianças obesas e eutróficas (33.9 ± 6.6 versus 14.1 ± 6.1 , $p < 0.001$). A análise dos exames laboratoriais das crianças obesas e eutróficas revelou diferença estatisticamente significativa nos valores de glicose ($p = 0,034$), insulina ($p = 0,008$), triglicerídeos ($p = 0,036$), ácido úrico ($p < 0,001$) e fosfatase alcalina ($p = 0,045$).

CONCLUSÃO: A análise computadorizada da ecogenicidade hepática, utilizando o programa ImageJ, é uma ferramenta acessível, reprodutível e de fácil manuseio para calcular o IHR, podendo também ser usada no seguimento e controle do tratamento da infiltração gordurosa hepática em crianças obesas.

PALAVRAS CHAVES: Ultra-som, Índice hepatorrenal, Análise computadorizada, Esteatose hepática.

ABSTRACT

PURPOSE: No simple computer-assisted method to assess liver echogenicity has been developed to date. This study describes an accessible and reproducible computer-assisted method to measure liver echogenicity in obese and normal-weight children, and correlates it with laboratory tests.

MATERIALS AND METHODS: Research ethics committee approval was obtained for this study, and written informed consent was obtained from all participants' parents or guardians. Twenty-two children aged 6 to 11 years were assigned to one of two groups of 11 children each and paired by sex and age. All children underwent US examination, anthropometric measurements and laboratory tests. A hepatorenal index (HRI) was calculated using the ImageJ image analysis software as the difference in echogenicity between liver parenchyma and kidney cortex. The Student t test and the Mann-Whitney tests were used for statistical analyses.

RESULTS: HRI was statistically different between obese and normal-weight children (33.9 ± 6.6 versus 14.1 ± 6.1 , $p < 0.001$). The analysis of laboratory tests of obese and normal-weight children revealed statistically significant differences in the values of glucose ($p = 0.034$), insulin ($p = 0.001$), triglycerides ($p = 0.036$), uric acid ($p < 0.001$) and alkaline phosphatase ($p = 0.045$).

CONCLUSIONS: Computer-assisted analysis of US liver echogenicity using the ImageJ software is an accessible, reproducible and easy tool to calculate HRI, and may be used to follow up and control the treatment of fat infiltration in the liver of obese children.

KEYWORDS: ultrasound, hepatorenal index, computer-assisted, hepatic steatosis

CAPÍTULO I

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 INTRODUÇÃO

A obesidade infantil tem representado nas últimas décadas um grande problema de saúde pública, sendo considerada uma epidemia global pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e o principal fator de risco para a obesidade na idade adulta.¹⁻³ Nos últimos 10 anos, esta doença tem crescido em torno de 10 a 40% na maioria dos países europeus.^{4,5} No Brasil, esse índice alcança cerca de 30% das crianças, principalmente nas famílias de média e alta renda.⁶⁻¹⁰ O excesso de peso pode ocasionar sérios problemas à saúde da criança, devido ao risco aumentado de doenças cardiovasculares e respiratórias nessa população. Crianças obesas apresentam com maior frequência aumento dos níveis de colesterol, triglicerídeos e pressão arterial, além de apresentarem

maior intolerância à glicose. Entre os problemas respiratórios, a obesidade infantil está associada à maior incidência de doenças obstrutivas das vias aéreas, tais como asma e apnéia do sono.¹¹ Além disto, as alterações metabólicas decorrentes da obesidade nesta população também aumentam o risco de desenvolver esteatose hepática não-alcoólica (EHNA), que tem sido proposta como um dos componentes da síndrome metabólica.^{12, 13}

1.2 Esteatose Hepática (EH)

Por definição, a EH é caracterizada pelo acúmulo de gordura, principalmente triglicerídeos, em uma percentagem entre 5-10% do peso total do fígado, que ocorre devido a uma variedade de causas.¹⁴ As duas condições mais comumente associadas à EH são o alcoolismo, freqüente em adultos, e a EH não relacionada ao consumo de álcool, que pode estar associada à obesidade e à síndrome metabólica, fatores de importância crescente na população pediátrica. Outras causas relativamente comuns de infiltração gordurosa do fígado são as hepatites virais e o uso ou abuso de certas drogas.¹⁵

Crianças obesas são mais propensas a desenvolver EH que as crianças eutróficas. A prevalência de EH em toda a população adulta varia entre 10 a 24%. Essa prevalência aumenta para 57 a 74% em adultos com obesidade. Na população pediátrica, a EH tem uma prevalência global de 2,6%, alcançando

índices que variam entre 23% e 53% em crianças obesas.¹⁴ Acredita-se que a prevalência da EH tende a aumentar juntamente com o aumento das taxas de obesidade, inclusive nas crianças, constituindo um problema de saúde pública. O primeiro relato de uma criança com EHNA foi descrito em 1983,¹⁶ não refletindo o atual contexto, no qual verificamos um crescente aumento na incidência de obesidade¹⁷ e síndrome metabólica entre as crianças, transformando a EHNA em uma causa relativamente comum de doença hepática nessa população.

Em indivíduos obesos, existe uma relação direta entre índice de massa corporal (IMC) e a severidade da EH. Em três estudos sobre a obesidade infantil, que utilizaram parâmetros clínicos, bioquímicos e ultra-sonográficos para graduação da infiltração gordurosa do fígado, encontraram uma prevalência de EH entre 53 e 77%^{18,19} Nesse estudo, a esteatose foi graduada pela ultra-sonografia de acordo com discrepância entre as ecogenicidades do fígado e córtex renal.

1.3 Fisiopatologia

A patogênese da EHNA permanece pouco entendida desde a primeira descrição sobre a doença. Existem muitas hipóteses para tentar explicar a fisiopatologia da EHNA, porém nenhuma respondeu o mecanismo exato dessa doença. Até o momento, não se sabe por que alguns pacientes com EH simples

evoluem de maneira favorável, sem esteatoepatite, enquanto outros indivíduos, com graus semelhantes de infiltração gordurosa hepática, desenvolvem uma doença progressiva, conhecida como esteatoepatite não-alcóolica (EENA). A EH simples, sem inflamação, é considerada uma condição benigna, não associada à elevação das transaminases. Contrariamente, a EENA é uma doença mais agressiva, com alteração das enzimas hepáticas, podendo evoluir em alguns casos para fibrose ou cirrose hepática.¹⁹ Nesse contexto, uma das patogêneses propostas é o acúmulo de gordura no fígado, seguida por dano hepatocelular oxidativo, com conseqüente inflamação e fibrose. Acredita-se que as diferenças na distribuição de gordura pelo corpo, os sistemas anti-oxidantes e a predisposição genética podem estar entre as possíveis explicações para o desenvolvimento e progressão da doença.¹⁴

Diante do risco aumentado da infiltração gordurosa hepática evoluir para graus variados de inflamação hepatocelular e devido ao reconhecimento da esteatoepatite como um diagnóstico distinto da EH, muitos estudos vem sendo publicados com o objetivo de encontrar um método não-invasivo por imagem que permita a mensuração da quantidade de gordura no fígado.²⁰

1.4 Exames de Imagem

Atualmente, existem tentativas de avaliação e quantificação da EH de forma não-invasiva através de diferentes exames de imagem, tais como ultra-

som, tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM). Todos visam à graduação indireta da infiltração gordurosa do fígado, objetivando encontrar resultados semelhantes aos da biópsia hepática, considerada o padrão ouro no diagnóstico da esteatose.²¹

1.4.1 Ultra-sonografia

Há mais de duas décadas, Henschke et al. analisaram retrospectivamente os exames ultra-sonográficos de 28 crianças com hepatomegalia e aumento difuso da ecogenicidade hepática, que haviam sido submetidas à biópsia do fígado por outros motivos durante a internação hospitalar. O objetivo dos autores era encontrar uma possível explicação para o aumento da ecogenicidade hepática no ultra-som, ou seja, saber o motivo pelo qual o fígado tinha a aparência mais branca e brilhante que o habitual, descrito na época como “bright liver”.²² Após análise histopatológica das biópsias hepáticas, foi constatada uma associação entre a hiperecogenicidade hepática e acúmulo de gordura nos hepatócitos, demonstrando relação entre esteatose e aumento da ecogenicidade do fígado.¹⁸

A ultra-sonografia tem sensibilidade de 89% e especificidade de 93% na detecção de esteatose hepática.²²⁻²⁴ No entanto, assim como outros métodos de imagem, entre os quais se incluem a TC e RM, o ultra-som pode apenas

predizer o grau de EH, ao contrário da biópsia, que é um exame confirmatório e considerado “padrão-ouro” para o diagnóstico de EHNA. Entretanto, por ser um método diagnóstico invasivo, a biópsia tem sido pouco empregada na população pediátrica, exceto em casos especiais.¹⁵

A ultra-sonografia é o exame de mais baixo custo, com amplo acesso à população e totalmente inócua ao paciente,²⁵ podendo ser utilizada em larga escala como “screening populacional” na detecção da EH em crianças com excesso de peso. Seu emprego na faixa etária pediátrica torna menos provável que outras doenças caracterizadas por aumento da ecogenicidade hepática em diferentes graus simulem infiltração gordurosa, tais como a hepatopatia crônica. Esse conceito é importante, já que nos indivíduos sem estas doenças, a possibilidade da hiperecogenicidade hepática corresponder a esteatose é muito alta. Entre as limitações do ultra-som, destaca-se sua dependência do examinador, caracterizando um exame de interpretação subjetiva, diferentemente da TC e da RM, que são exames originalmente computadorizados.²⁶

No exame ultra-sonográfico, em condições normais, a ecogenicidade do fígado é igual ou discretamente maior em relação ao córtex renal ou parênquima esplênico. Além disso, os vasos intra-hepáticos são bem delimitados e o aspecto posterior do fígado e o diafragma são de fácil visualização. Na EH, o diagnóstico ultra-sonográfico pode ser estabelecido quando a ecogenicidade do fígado excede a do córtex renal ou do baço e

adicionalmente ocorre atenuação do feixe acústico, com perda da definição dos contornos do diafragma e da arquitetura intra-hepática (Figura 1).

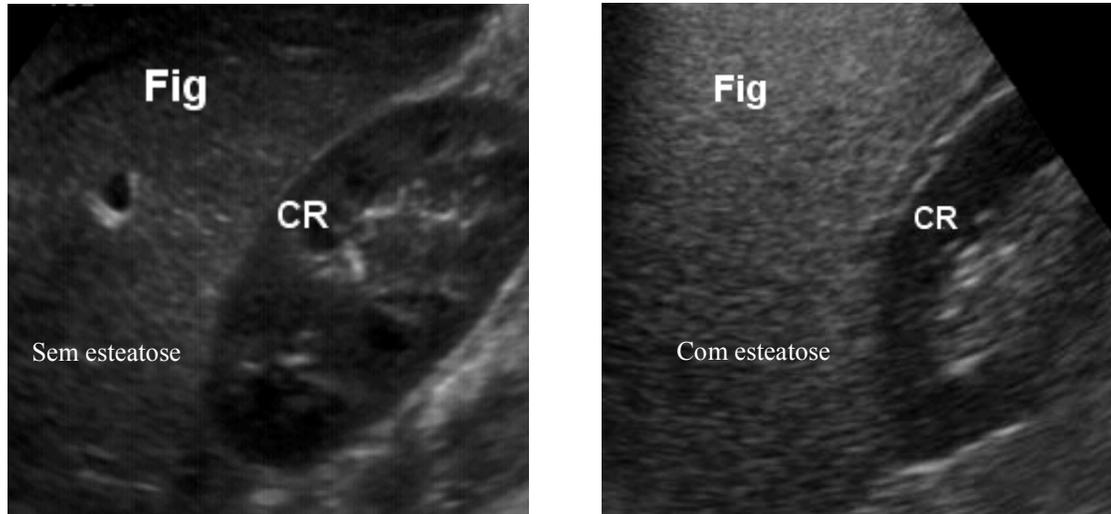


Figura 1 – Ultra-sonografias de pacientes sem esteatose (imagem esquerda) e com esteatose hepática (imagem direita). CR = Córtex Renal. Fig = Fígado

Existem vários padrões de infiltração gordurosa do parênquima hepático que variam conforme a distribuição do depósito de gordura no fígado, podendo ser difuso, focal, multifocal, perivascular ou subcapsular.^{27,28} O padrão difuso é a distribuição mais encontrada na EH, sendo caracterizado por envolvimento difuso e homogêneo do fígado, o que torna seu diagnóstico mais rápido e acurado. Os demais padrões de EH são encontrados menos frequentemente e são de difícil diagnóstico através dos exames de imagem. Isso ocorre pela aparência pseudotumoral de algumas formas atípicas de infiltração gordurosa, que podem simular lesões hepáticas nodulares de várias etiologias.

A diferença de ecogenicidade entre o fígado e o córtex renal, também conhecida como índice hepatorenal, é uma das técnicas muito utilizadas pelos

médicos ultra-sonografistas para detectar mais facilmente o aumento da ecogenicidade hepática, permitindo a graduação da esteatose em graus leve, moderado e severo.²⁴ No entanto, devido ao ultra-som ser uma técnica operador-dependente, as interpretações podem variar conforme a experiência e o conhecimento de cada médico ultra-sonografista. Esse problema particular do ultra-som, por tratar-se de uma técnica operador-dependente, tem sido atenuado nos últimos anos devido ao crescente emprego da captura e armazenamento digitais das imagens ultra-sonográficas e ao avanço das técnicas de análise computadorizada de imagens, permitindo, dessa maneira, a quantificação da ecogenicidade dos tecidos examinados pelo ultra-som, em especial o parênquima hepático e o córtex renal, através do índice hepato-renal.

Na literatura, a maioria dos estudos utiliza uma combinação de critérios ultra-sonográficos subjetivos para graduação da EH em adultos, cuja técnica é aplicada até hoje na prática diária.²⁹⁻³¹ Outros estudos, no entanto, empregam a análise computadorizada da ecogenicidade hepática para quantificar e estimar o grau de infiltração gordurosa em indivíduos adultos, visando reduzir a subjetividade na graduação e interpretação das imagens ultra-sonográficas pelo médico examinador. Grande parte das técnicas ultra-sonográficas de análise computadorizada propostas nesses estudos, diferentemente da nossa, avalia apenas o parênquima hepático, através de histogramas, pós-processamento de imagens e cálculos complexos, visando obter uma estimativa do grau de infiltração gordurosa.^{32,33} Encontramos apenas um estudo de análise computadorizada da ecogenicidade que, de maneira semelhante ao nosso

estudo, utiliza o contraste hepatorenal para estimar o grau de EH, o qual apresenta ótima correlação com escores clínicos de esteatose, demonstrando sensibilidade e especificidade de 92% e 94%, respectivamente.³⁴ Apesar dessas tentativas, até o momento nenhuma das técnicas computadorizadas propostas foi adotada pela comunidade médica na investigação da EH, possivelmente devido à falta de otimização e à alta complexidade das técnicas de análise computadorizada das imagens disponível até o momento. Vale ressaltar que em nossa revisão não encontramos nenhum estudo semelhante abordando a análise computadorizada da ecogenicidade hepática em crianças obesas.

Diante disso, esse estudo tem dois objetivos: avaliar uma nova metodologia para quantificar a ecogenicidade hepática no exame ultrassonográfico através de análise computadorizada que seja reprodutível, acessível e de fácil utilização e verificar se existe correlação entre a ecogenicidade hepática de crianças eutróficas e obesas com os exames laboratoriais.

1.4.2 Tomografia Computadorizada

A TC sem contraste também tem sido utilizada com sucesso desde a década de 70 na avaliação e graduação da EH, possuindo sensibilidade de

82% e especificidade de 100% no diagnóstico dessa patologia.^{35,36} O princípio básico da TC para detecção da infiltração gordurosa é a mensuração da densidade hepática em Unidades de Hounsfield (UH). Na EH, geralmente ocorre redução difusa na densidade do parênquima hepático, tornando-se mais hipodenso que o normal. Uma das maneiras mais utilizadas para quantificação da EH na TC sem contraste é a comparação com o baço, através do cálculo do índice hepato-esplênico (IHE), obtido pela subtração entre as atenuações do parênquima hepático e esplênico. Diferenças maiores que 10 UH entre o fígado e o baço são altamente preditivas de EH, apresentando boa correlação com a análise histológica. Embora seja muito útil na detecção da EH, a TC não tem a capacidade de quantificar o depósito de gordura no fígado, podendo apenas estimá-la.

A TC tem sido pouco utilizada em crianças, principalmente devido à radiação excessiva, maior necessidade de sedação e ao custo mais elevado, quando comparada ao ultra-som.³⁷

1.4.3 Ressonância Magnética

A RM parece ser o método de imagem mais sensível e objetivo para demonstração e quantificação da EH em adultos, utilizando seqüências

específicas, tais como “chemical shift” que permitem o cálculo da fração livre de gordura no fígado.^{38,39} De acordo com estudo que avaliou o fígado de potenciais doadores para transplante hepático, a RM foi capaz de diagnosticar com alta sensibilidade (100%), especificidade (92,3%) e acurácia (93%) os pacientes com infiltração gordurosa superior a 20%, que é considerado o ponto de corte para contra-indicar a doação do órgão.⁴⁰

Por não emitir radiação ionizante e pela sua capacidade de quantificar a fração de gordura, a RM representa o melhor método para investigação da EH em crianças obesas. Além disso, no mesmo exame é possível avaliar a relação entre o grau de EH e a distribuição de tecido adiposo na criança, que pode se depositar no tecido subcutâneo ou visceral.

Entretanto, devido ao custo elevado, maior necessidade de sedação e sua limitação com pacientes claustrofóbicos, a RM não vem sendo utilizada como rotina na investigação da EH.

1.5 Biópsia Hepática

A biópsia hepática é considerada o método padrão-ouro para o diagnóstico definitivo da EH, permitindo sua quantificação. Com a análise

histológica, também é possível fazer a diferenciação entre EHNA e EENA, que é uma doença inflamatória gradualmente progressiva, que pode levar à fibrose.

A maioria dos estudos gradua de forma semiquantitativa a esteatose macrovacuolar: ela é classificada como discreta quando compromete de 0 a 33% dos hepatócitos; moderada quando compromete 33 a 66% e acentuada quando compromete mais de 66% dos hepatócitos.⁴¹

No entanto, por ser um método invasivo e de alto custo, a biópsia hepática não está indicada na investigação da EH em crianças, sendo seu uso permitido apenas em casos selecionados. Essa limitação da biópsia hepática torna necessária a utilização de métodos diagnósticos alternativos e não-invasivos para a demonstração e quantificação da infiltração gordurosa do fígado, entre os quais se incluem os métodos de imagem previamente descritos.

2 JUSTIFICATIVA

A obesidade infantil representada um grande problema de saúde pública, sendo considerada uma epidemia global pela OMS.² Nas últimas décadas, ela tem crescido rapidamente na maioria dos países europeus, fato que ocorre também no Brasil.⁴⁻¹⁰

Além de a obesidade trazer sérios problemas para a saúde da criança, ela também contribui para um significativo aumento na prevalência da EHNA na população pediátrica.¹²

A infiltração gordurosa do fígado é demonstrada na ultra-sonografia como um aumento difuso da ecogenicidade, ou seja, o parênquima hepático torna-se mais branco e brilhante que o habitual (“bright liver”).¹⁷ Uma técnica bastante empregada pelos médicos ultra-sonografistas para detectar mais facilmente o aumento da ecogenicidade hepática é o índice hepatorrenal (IHR), que avalia a diferença de ecogenicidade entre o fígado e o córtex renal direito,

permitindo a graduação da EH em graus leve, moderado e severo.²⁴ Atualmente, essa técnica de análise visual e subjetiva da ecogenicidade hepática permanece ainda bastante utilizada nos centros de diagnóstico por imagem para avaliação e graduação da EH., por ser um método simples, seguro e barato.⁴² No entanto, por se tratar de uma técnica visual e dependente do médico examinador, ocorrem muitas variações e erros na interpretação e graduação das imagens ultra-sonográficas representativas do parênquima hepático. Esses fatores, aliados ao diferente grau de conhecimento técnico e experiência de cada médico ultra-sonografista, tornam o método de análise visual pouco reprodutível e confiável.

Nesse sentido, vários estudos foram propostos com o objetivo de quantificar a ecogenicidade hepática e estimar o grau de infiltração gordurosa por meio de análise computadorizada do parênquima hepático, visando reduzir a subjetividade da graduação da EH e padronizar sua interpretação pelos ultra-sonografistas. No entanto, até o momento nenhum dos métodos de análise computadorizada propostos vem sendo utilizado na prática diária como ferramenta adicional na investigação da EH, possivelmente devido a sua alta complexidade e difícil aplicação.

No presente estudo, pretende-se aplicar um novo protocolo que seja acessível, reprodutível e de fácil manuseio para mensuração do IHR, através da análise computadorizada das imagens ultra-sonográficas. Com isso, objetiva-se reduzir e talvez anular o viés “operador-dependente”, permitindo, dessa

maneira, uma quantificação mais acurada e fidedigna da diferença de ecogenicidade entre o fígado e o córtex renal direito. O estudo também visa reduzir a subjetividade e a variabilidade das interpretações ultra-sonográficas relacionadas à graduação da EH em crianças com suspeita de esteatose.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Principal

Validar um método para quantificação da ecogenicidade hepática, através de análise computadorizada.

3.2 Objetivo Secundário

Avaliar se existe associação entre a ecogenicidade hepática e os exames laboratoriais nas crianças obesas e eutróficas.

4 REFERÊNCIAS

1. Parsons TJ, Power C, Logan S, et al., *Childhood predictors of adult obesity: a systematic review*. Int J Obes Relat Metab Disord, 1999; **23 Suppl 8**: S1-107.
 2. Nanda, K., *Non-alcoholic steatohepatitis in children*. Pediatr Transplant, 2004; **8**(6):613-8.
 3. Freedman DS, Khan LK, Serdula MK, et al., *The relation of childhood BMI to adult adiposity: the Bogalusa Heart Study*. Pediatrics, 2005; **115**(1):22-7.
 4. Dietz, W.H., *The obesity epidemic in young children. Reduce television viewing and promote playing*. Bmj, 2001; **322**(7282): 313-4.
 5. Ebbeling CB, Pawlak DB and Ludwig DS, *Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure*. Lancet, 2002; **360**(9331): 473-82.
 6. Monteiro C and Conde W, *Tendência secular da desnutrição e da obesidade na infância na cidade de São Paulo (1974-1996)*. Rev Saúde Pública. , 2000; **34**(6): 52-61.
 7. Leão, L., L. Araujo, and L. Moraes, *Prevalência de obesidade em escolares de Salvador, Bahia*. . Arq Bras Endocrinol Metab. , 2003. **47**:151-7.
 8. Anjos LA, Castro IRR, Engstrom EM, Azevedo AMF, *Crescimento e estado nutricional em amostra probabilística de escolares no Município do Rio de Janeiro, 1999*. Cad Saúde Pública., 2003; **19**(Supl 1): 171-9.
-

9. Abrantes M, Lamounier J and Colosimo E, *Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes das regiões Sudeste e Nordeste*. J Pediatr (Rio J). , 2002; **78**: 335-40.
 10. Balaban G and Silva GAP, *Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes de uma escola da rede privada de Recife*. J Pediatr (Rio J). 2003; **77**:96-100.
 11. Dietz WH, *Health consequences of obesity in youth: childhood predictors of adult disease*. Pediatrics, 1998; **101**(3 Pt 2):518-25.
 12. Roberts EA, *Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in children*. Front Biosci, 2005; **10**: 2306-18.
 13. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrel GC, et al., *NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome*. Hepatology, 2002; **35**(2):373-9.
 14. Angulo P, *Nonalcoholic fatty liver disease*. N Engl J Med, 2002; **346**(16): 1221-31.
 15. Hamer, O.W., et al., *Fatty liver: imaging patterns and pitfalls*. Radiographics, 2006; **26**(6): 1637-53.
 16. Moran JR, Ghishan FK, Halter SA, et al., *Steatohepatitis in obese children: a cause of chronic liver dysfunction*. Am J Gastroenterol, 1983; **78**(6): 374-7.
 17. Klish WJ, *Childhood obesity*. Pediatr Rev, 1998; **19**(9): 312-5.
 18. Franzese A, Vajro P, Argenziano A, et al., *Liver involvement in obese children. Ultrasonography and liver enzyme levels at diagnosis and during follow-up in an Italian population*. Dig Dis Sci, 1997; **42**(7): 1428-32.
-

19. Chan, D.F., et al., *Hepatic steatosis in obese Chinese children*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2004; **28**(10): 1257-63.
 20. Qayyum, A., et al., *Accuracy of liver fat quantification at MR imaging: comparison of out-of-phase gradient-echo and fat-saturated fast spin-echo techniques--initial experience*. Radiology, 2005; **237**(2): 507-11.
 21. Schuchmann, S., et al., *Non-invasive quantification of hepatic fat fraction by fast 1.0, 1.5 and 3.0 T MR imaging*. Eur J Radiol, 2007; **62**(3): 416-22.
 22. Henschke, C.I., H. Goldman, and R.L. Teele, *The hyperechogenic liver in children: cause and sonographic appearance*. AJR Am J Roentgenol, 1982; **138**(5): 841-6.
 23. Osawa, H. and Y. Mori, *Sonographic diagnosis of fatty liver using a histogram technique that compares liver and renal cortical echo amplitudes*. J Clin Ultrasound, 1996; **24**(1):25-9.
 24. Joseph, A.E., et al., *Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease*. Clin Radiol, 1991; **43**(1): 26-31.
 25. Lupsor, M. and R. Badea, *Imaging diagnosis and quantification of hepatic steatosis: is it an accepted alternative to needle biopsy?* Rom J Gastroenterol, 2005; **14**(4): 419-25.
 26. Graif M, *Quantitative estimation of attenuation in ultrasound Video Images: Correlation with Histology in Diffuse Liver Disease*. Invest. Radiol, 2000; **35**: p. 5.
 27. Karcaaltincaba M and Akhan O, *Imaging of hepatic steatosis and fatty sparing*. Eur J Radiol, 2007; **61**(1): 33-43.
-

28. Kemper J, Jung G, Poll LW, et al., *CT and MRI findings of multifocal hepatic steatosis mimicking malignancy*. *Abdom Imaging*, 2002; **27**(6): 708-10.
 29. Mathiesen UL, Franzen LE and Aselius H, *Increased liver echogenicity at ultrasound examination reflects degree of steatosis but not of fibrosis in asymptomatic patients with mild/moderate abnormalities of liver transaminases*. *Dig Liver Dis*, 2002; **34**: 516-22.
 30. Joy D, Thava VR and Scott BB, *Diagnosis of fatty liver disease: is biopsy necessary?* . *Eur J Gastroenterol Hepatol.*, 2003; **15**: 539-43.
 31. Needleman L, Kurtz AB, Rifkin MD, et al, *Sonography of diffuse benign liver disease: accuracy of pattern recognition and grading*. *Am J Roentgenol*, 1986; **146**: 1011–5.
 32. Kazuo M, Utsu M and Kihale PE, *Quantification of sonographic echogenicity with grey-level histogram width: a clinical tissue characterization*. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 1998; **24**: 225-34.
 33. Thijssen JM, Starke A, Weijers G, et al., *Computer-aided B-mode ultrasound diagnosis of hepatic steatosis: a feasibility study*. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 2008; **55**(6): 1343-54.
 34. Jeong J, Lee W, Won Lee S, et al, *Computer-assisted Sonographic Analysis of the Hepatorenal and Textural Features for the Diagnosis of the Fatty Liver*. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2005; **3**: 3348-50.
 35. Piekarski J, Goldberg HI, Royal SA, et al, *Difference between liver and spleen CT numbers in the normal adult: its usefulness in predicting the presence of diffuse liver disease*. *Radiology*, 1980; **137**:727-9.
-

36. Park SH, Kim PN and Kim KW, *Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: use of CT for quantitative and qualitative assessment.* . Radiology, 2006; **239**: 105-12.
 37. Mendler, MH., *Dual-energy CT in the Diagnosis and Quantification of Fatty Liver: Limited Clinical Value in Comparison to Ultrasound Scan and Single-energy CT, with Special reference to Iron Overload.* J. Hepatol, 1998; **28**: p. 10.
 38. Fishbein MH, Gardner KG, Potter CJ, et al, *Introduction of fast MR imaging in the assessment of hepatic steatosis.* Magn Reson Imag., 1997;**15**: 287-93.
 39. Thomsen C, Becker U, Winkler K, et al., *Quantification of liver fat using magnetic resonance spectroscopy.* Magn Reson Imaging, 1994; **12**(3):487-95.
 40. Kim SH, Lee JM, Han JK, et al., *Hepatic macrosteatosis: predicting appropriateness of liver donation by using MR imaging--correlation with histopathologic findings.* Radiology, 2006; **240**(1):116-29.
 41. Brunt EM, *Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology.* Semin Liver Dis, 2001; **21**(1): 3-16.
 42. de Moura Almeida A, Cotrim HP, Barbosa DB, et al., *Fatty liver disease in severe obese patients: diagnostic value of abdominal ultrasound.* World J Gastroenterol, 2008; **14**(9): 1415-8.
-

CAPÍTULO II

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Validação da Técnica Ultra-sonográfica

A técnica de análise computadorizada do IHR aplicada em nosso protocolo de investigação foi validada através de estudo prospectivo em onze pacientes, conduzido no Hospital São Lucas da PUCRS. Os pacientes examinados foram alocados por conveniência no momento de seu comparecimento ao Serviço de Ultra-sonografia, para agendamento do exame. Foram alocados consecutivamente pacientes sem histórico de doença hepato-renal, que concordavam em participar do estudo. Não houve restrição de idade, peso ou sexo para participação do estudo. O objetivo desse estudo de validação foi avaliar, através de análise computadorizada, o IHR de cada paciente em três aparelhos de ultra-som de fabricantes distintos. Para isso, cada paciente foi examinado três vezes, em momentos e dias distintos, cada

vez em um tipo de aparelho, com a intenção de cegar o examinador. Durante cada exame, foram realizados três ajustes de ganho diferentes (ganho alto, médio e baixo), com documentação das imagens representativas do fígado e do córtex renal. Essas imagens ultra-sonográficas foram submetidas à análise computadorizada através do software “ImageJ”, para o cálculo do IHR.

5.2 População em Estudo

Estudo de casos e controles que avaliou crianças obesas entre 6 e 11 anos de idade, alocadas por conveniência do ambulatório de obesidade do Hospital São Lucas da PUCRS, com IMC igual ou superior ao percentil 97, no período de dezembro de 2007 a fevereiro de 2008. Para o grupo controle, foram incluídas crianças eutróficas, emparelhadas por sexo e idade, com IMC entre os percentis 25 e 75, que consultavam na nossa instituição por outros motivos e que realizaram coleta de exames laboratoriais. Excluíram-se as crianças com doença hepatorenal e em uso de drogas hepatotóxicas, nefrotóxicas, corticosteróides e imunossupressores. Nos dois grupos, foram realizadas medidas antropométricas, exames laboratoriais e ultra-sonografia. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de nossa instituição e todos os pais ou os responsáveis legais pelas crianças assinaram o termo de consentimento para participar do estudo.

5.3 Dados Antropométricos

Foram registrados dados sobre sexo, idade, peso, altura, circunferência abdominal e IMC. Utilizou-se a tabela de IMC versus idade do NCHS (National Center for Health Statistics) para acessar o percentil de cada criança.

5.4 Exames Laboratoriais

Todas as crianças incluídas no estudo realizaram exames laboratoriais em jejum de 12 horas, para dosagem das concentrações de glicose, insulina, colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos, transaminases, fosfatase alcalina, gama-gt e ácido úrico. As amostras sanguíneas foram coletadas e analisadas de maneira padronizada no laboratório de nossa instituição.

5.5 Técnica de Ultra-sonografia Hepática com Análise Computadorizada

Os exames ultra-sonográficos foram realizados em uma plataforma HD11 (Phillips Medical Systems) com transdutor convexo de 3,5 – 5 MHz, em tempo real e escala cinza, com parâmetros de imagem ajustados de maneira idêntica

para todas as crianças examinadas. Todas as ultra-sonografias foram realizadas pelo mesmo médico radiologista e tiveram a duração aproximada de 1 a 2 minutos. Para cada paciente foi obtida uma imagem representativa do parênquima hepático e córtex renal direito, utilizando abordagem subcostal, na linha hemiclavicular. A imagem ultra-sonográfica era composta pelo segmento hepático VI e pelo parênquima renal adjacente, obtida ao nível do espaço hepatorenal. Após digitalização da imagem ultra-sonográfica em formato “.tiff” (tagged image file format), utilizou-se um programa de domínio público para análise computadorizada (ImageJ; National Institutes of Health, Bethesda, Md), disponível gratuitamente na internet através do site <http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>. Esse programa permite a mensuração da ecogenicidade da imagem digital obtida através da ultra-sonografia, sendo possível quantificar a ecogenicidade do parênquima hepático e do córtex renal direito. Seus valores são graduados em escada de cinza, em unidades arbitrárias, que variam de 0 até 255, do preto ao branco, respectivamente. Para análise computadorizada, foram selecionadas duas regiões de interesse (ROI) com formato circular, descritas a seguir:

- 1) parênquima hepático, próximo de sua borda inferior (área: 400 – 500 pixels).
- 2) córtex renal direito, próximo de sua borda superior (área: 300 – 400 pixels).

As duas ROI foram selecionadas de maneira justaposta na mesma imagem e no mesmo eixo do feixe acústico, a fim de minimizar artefatos e

variações na ecogenicidade da janela acústica. Após a mensuração da ecogenicidade nas regiões de interesse, subtraíram-se os dois valores resultantes para obtenção do IHR. Esse protocolo foi aplicado para todas as crianças incluídas no estudo, obesas e eutróficas.

IHR = Ecogenicidade Hepática – Ecogenicidade córtex renal

5.6 Análise Estatística

No estudo de validação, foi empregada o teste Análise de Variância (ANOVA), a partir do qual foram calculados os Coeficientes de Correlação Intraclasse e Interclasse, que são ferramentas estatísticas utilizadas para estimar a fidedignidade de um teste de validação. Esses testes verificaram se existia diferença, ou não, entre o IHR do mesmo paciente, avaliado em três ajustes de ganho diferentes e em três aparelhos de ultra-som distintos.

No estudo principal, os dados coletados foram armazenados em planilha Excel e analisados através do programa estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 13.0. Os dados serão expressos em médias e desvios-padrões.

Inicialmente, a estimativa do tamanho amostral foi baseada em estudo piloto, assumindo o IHR em crianças obesas e eutróficas fosse aproximadamente de 15, com desvio padrão de 10, poder de 0,95 e nível de significância de 0,05, constituindo adequada uma amostra de 10 pacientes por grupo. Usou-se o IHR como variável dependente e a obesidade como variável independente. Os dados relacionados ao IHR distribuíram-se em curva unicaudal, com intervalo de confiança (IC) de 95%. Os valores mensurados de glicose, insulina, colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos, transaminases, fosfatase alcalina, gama-gt e ácido úrico foram distribuídos em uma curva unicaudal longa à direita. Utilizou-se o test t de Student para médias com distribuição normal e o teste de Mann-Whitney para médias com distribuição anormal.

CAPÍTULO III

ARTIGO ORIGINAL

Computer-assisted US analysis of liver echogenicity in obese and normal-weight children.

Ricardo B. Soder¹
Matteo Baldisserotto²
Vinicius D. da Silva³

PURPOSE: No simple computer-assisted method to assess liver echogenicity has been developed to date. This study describes an accessible and reproducible computer-assisted method to measure liver echogenicity in obese and normal-weight children, and correlates it with laboratory tests.

MATERIALS AND METHODS: Research ethics committee approval was obtained for this study, and written informed consent was obtained from all participants' parents or guardians. Twenty-two children aged 6 to 11 years were assigned to one of two groups of 11 children each and paired by sex and age. All children underwent US examination, anthropometric measurements and laboratory tests. A hepatorenal index (HRI) was calculated using the ImageJ image analysis software as the difference in echogenicity between liver parenchyma and kidney cortex. The Student t test and the Mann-Whitney tests were used for statistical analyses.

RESULTS: HRI was statistically different between obese and normal-weight children (33.9 ± 6.6 versus 14.1 ± 6.1 , $p < 0.001$). The analysis of laboratory tests of obese and normal-weight children revealed statistically significant differences in the values of glucose ($p = 0.034$), insulin ($p = 0.001$), triglycerides ($p = 0.036$), uric acid ($p < 0.001$) and alkaline phosphatase ($p = 0.045$).

CONCLUSION: Computer-assisted analysis of US liver echogenicity using the ImageJ software is an accessible, reproducible and easy tool to calculate HRI, and may be used to follow up and control the treatment of fat infiltration in the liver of obese children.

Childhood obesity is a serious public health problem and an epidemic according to the World Health Organization (WHO) [1]. Its prevalence has increased dramatically in the last decades, particularly in North America and Europe, where it reached about 18% and 40% [2-4]. Obesity not only causes aesthetic and psychological problems to children, but also increases the risk of cardiovascular, metabolic, respiratory and liver diseases [4]. The most prevalent hepatic complication is non-alcoholic hepatic steatosis, an asymptomatic disease that may progress to steatohepatitis or even cirrhosis [5].

In the paediatric population, hepatic steatosis (HS) has a global prevalence of 2.6%, but may reach alarming indices among obese children, from 23% to 53% [6]. These rates, only slightly low-

er than those found among adult populations, have drawn the attention of the scientific community to a disease previously thought to affect only adults.

Imaging techniques, such as ultrasound (US), computed tomography (CT) and magnetic resonance (MRI), have been used in attempts to evaluate and measure HS noninvasively. An ideal technique should grade fat infiltration in the liver indirectly and obtain information similar to that provided by liver biopsy, the criterion standard for the diagnosis of steatosis [7]. Studies with CT reported excellent results, with a sensitivity of 82% and specificity of 100% for the diagnosis of HS using spleen attenuation as a reference [8]. However, CT should be avoided whenever possible because it unnecessarily exposes children to ionising radiation, often requires sedation, and has high costs [9]. MRI seems to be

¹Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Address: Av. Ipiranga 6690, 90610-000 Porto Alegre, RS, Brazil. Address correspondence to Ricardo B. Soder: Av. Mariland 1372 apto 501, Mont Serrat, 90440-190 - Porto Alegre, RS, Brazil.

²Serviço de Radiologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga 6690, 90610-000 Porto Alegre, RS, Brazil.

³Serviço de Radiologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga 6690, 90610-000 Porto Alegre, RS, Brazil.

Soder et al.

the most sensitive and objective modality to detect and measure HS in adults when specific sequences are used to enhance its performance [10]. However, it has the same disadvantages as CT when used to examine children. Ultrasound has the lowest cost, is widely available, and does not expose patients to any deleterious effects [11]. It can be used for HS screening among overweight children to ensure that increases in liver echogenicity caused by other conditions, such as chronic liver diseases, are not confused with fat infiltration [12]. In otherwise healthy individuals, liver hyperechogenicity often corresponds to steatosis. One of the limitations of US use is its operator-dependent quality, and the fact that interpretations are subjective, differently from CT and MRI [13]. Most studies in the literature use a combination of subjective US criteria to grade HS in adults [14-16]. Few studies used computer-assisted analysis of US liver echogenicity to measure the degree of fat infiltration in adults, probably because of poor optimization and the complexity of contemporary computer-assisted image-analysis techniques [17, 18]. Our review of the literature yielded no study about computer-assisted analysis of US echogenicity to investigate HS in obese children. This study evaluated a computer-assisted method to measure US liver echogenicity and calculated the correlation between US liver echogenicity and laboratory tests of obese and normal-weight children to investigate HS.

MATERIALS AND METHODS

Research ethics committee approval was obtained for this study, and written informed consent was obtained from all participants' parents or legal guardians.

Validation of the Ultrasound Technique

The computer-assisted technique used to calculate and analyze the hepatorenal index (HRI) was first validated in a prospective pilot study with 11 patients that did not participate in the main study. A convenience sample was selected at the time patients came to our Ultrasound Service to make an appointment. Patients without a history of liver or kidney disease were consecutively enrolled when they agreed to participate in the study. There were no age,

weight or gender criteria for inclusion in the validation study. Computer-assisted analyses were conducted to evaluate the HRI of each patient using three ultrasound units: HD11 (Phillips Medical Systems, Bothell, Washington), Nemio XG (Toshiba Medical Systems, Tokyo, Japan) and SDU-1100 (Shimadzu Medical Systems, Kyoto, Japan). Each patient underwent three examinations at different times and days using a different US unit each time to blind the examiner. During the examination, gain was adjusted to three levels (high, medium and low) and representative images of the liver and kidney cortex were obtained. The sonographic examinations were carried out by an experienced radiologist that holds certification equivalent to that awarded by the American Board of Radiology.

The sonographic examinations were carried out by an experienced radiologist that holds certification equivalent to that awarded by the American Board of Radiology.

Study population

This prospective cross-sectional controlled study was conducted from December 2007 to February 2008 with 22 children aged 6 to 11 years divided into two groups of 11 children each and paired by sex and age. For comparisons between the two groups, all children underwent US examination, anthropometric measurements and laboratory tests. In each group, 7 boys and 4 girls were examined. Mean ages of obese and normal-weight children were 10.7 and 9.9 years. A convenience sample of obese children seen at the Obesity Laboratory in our hospital was enrolled and assigned to the study group; their body mass index (BMI) was equal to or greater than the 97th percentile. For the control group, normal-weight children seen at our Radiology Service for several reasons and whose BMI was from the 25th to the 75th percentile were paired to study subjects by sex and age. Children with hepatorenal diseases or under treatment with hepatotoxic or nephrotoxic drugs, corticosteroids or immunosuppressive agents, were excluded from the study. In the two groups, anthropometric measurements, laboratory tests and ultrasound examinations were performed.

Anthropometric data

Data about sex, age, weight, height, waist circumference and BMI were recorded. The BMI-for-Age chart pre-

pared by the National Center for Health Statistics was used to calculate the percentile for each child.

Laboratory tests

Concentrations of glucose, insulin, total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, transaminases, alkaline phosphatase, gamma-gt and uric acid were measured for all children in the two groups. Blood samples were collected after a 12-hour fasting and analyzed according to standard procedures of the laboratory in our institution.

Liver sonogram and computer-assisted analysis

Real time grey-scale US examinations were performed using a HD11 (Phillips Medical Systems) unit and 3.5-5 MHz convex transducer. Image parameters were adjusted identically for all children. All US exams were performed by the same radiologist using the same low-frequency transducer; each exam took approximately 1 to 2 minutes. For each patient, a subcostal approach at the midclavicular line was used to obtain a single sagittal image of the liver parenchyma and right kidney cortex during maximal inspiration. The US image was composed of the VI liver segment and adjacent liver parenchyma obtained at the level of the hepatorenal space. After digitalization of the US image as a tagged image file (.tiff), public domain software (Image J; National Institutes of Health, Bethesda, Md) was used for computer-assisted analysis. This software, available for free download from <http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>, can quantify the echogenicity of the digital image obtained using ultra-

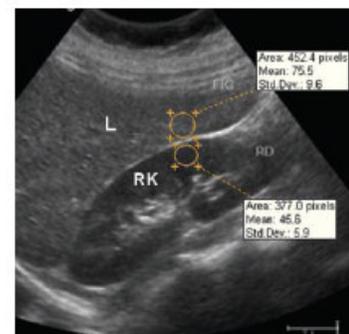


Fig. 1 — Digital sonogram of hepatorenal interface for computer-assisted calculation of hepatorenal index (HRI). L = Liver; RK = Right Kidney

Computer-assisted US analysis of liver echogenicity in obese and normal-weight children

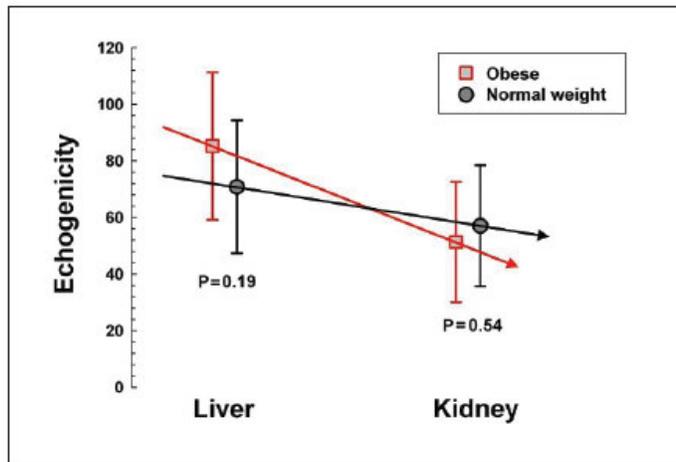


Fig. 2 — Liver and kidney echogenicity values of normal-weight and obese children.

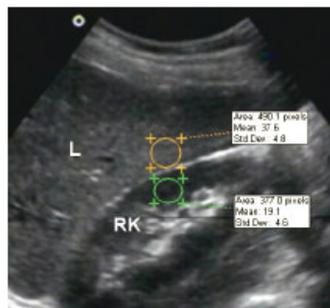


Fig. 3 — Normal-weight 9-year-old child sonogram. L = Liver; RK = Right Kidney

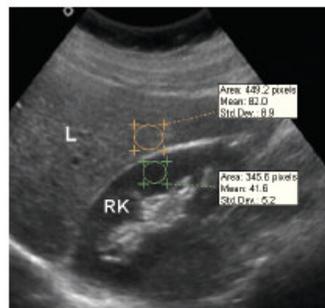


Fig. 4 — Obese 10-year-old child sonogram. L = Liver; RK = Right Kidney

sound, and the echogenicity of the liver parenchyma and right kidney cortex can be measured. Values are graded in gray scale using arbitrary units that range from 0 to 255, from black to white. For computer-assisted analysis, two circular regions of interest (ROI) were selected, as described below (Figure 1):

- (1) Liver parenchyma, close to its lower border (area: 400 – 500 pixels).
- (2) Right kidney cortex, close to its upper border (area: 300 – 400 pixels).

The two ROI were selected as they were juxtaposed on the same image and on the same axis of the acoustic beam to minimize artefacts and variations in the echogenicity of the acoustic window. After the measurement of echogenicity in the two ROI's, the value for the kidney echogenicity was subtracted from the value for the liver echogenicity to obtain the hepatorenal index

(HRI). The same protocol was used for all obese and normal-weight children included in the study. In this group, the sonographic examinations were carried out by the same radiologist who performed the pilot study.

Statistical analysis

Analysis of variance (ANOVA) was used in the validation study, and results were used to calculate intraclass and interclass correlation coefficients, statistical tools used to estimate reliability. These tests evaluated whether there was a difference between the HRI of the same patient evaluated at three gain adjustments and using three different ultrasound units.

In the principal study, data were stored in an Excel spreadsheet and analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences 13.0 (SPSS) software.

Data were described as means and standard deviations.

Initial sample size was calculated according to the pilot study, assuming that HRI in obese and normal-weight children was about 15 (± 10). Power was set at 0.95, and the level of significance, at 0.05. Results showed that the minimal sample size was 10.

HRI was used as a dependent variable, and obesity, as an independent variable. Data associated with HRI were distributed in a one-tailed curve at a 95% confidence interval (95% CI). Blood concentrations of glucose, insulin, total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, transaminases, alkaline phosphatase, gamma-gt and uric acid showed a long-tailed distribution to the right. The Student t test was used to calculate normally distributed means, and the Mann-Whitney test, for non-normally distributed means.

RESULTS

The results of the pilot validation study showed that there were no statistically significant differences between the HRI of the same patient even when different gain adjustments and units were used. The values of intraclass (comparison of one US unit and three gain adjustments) and interclass (three US units and three gain adjustments) correlation coefficients were close to one for the three gain adjustments and three units, which was explained by the great similarity of all measurements obtained and, therefore, validated the technique.

In the main study, anthropometric measurements showed that all obese children were in classified in a percentile equal to or greater than 97th according to the NCHS BMI-for-Age chart. In the control group, ten normal-weight children were in the 50 to 75 percentile interval, and one, in the 25th to 50th bracket. Waist circumferences were significantly different between the two groups (89.1±14.1 versus 62.5±5.2 cm, p<0.001).

After computer-assisted analysis of the digital images, no statistically significant differences were found between the echogenicity values of the liver parenchyma of obese and normal-weight children (85.8±26.1 versus 71.5±23.5, p=0.19). There were also no significant differences in kidney cortex echogenicity values between the two groups

Soder et al.

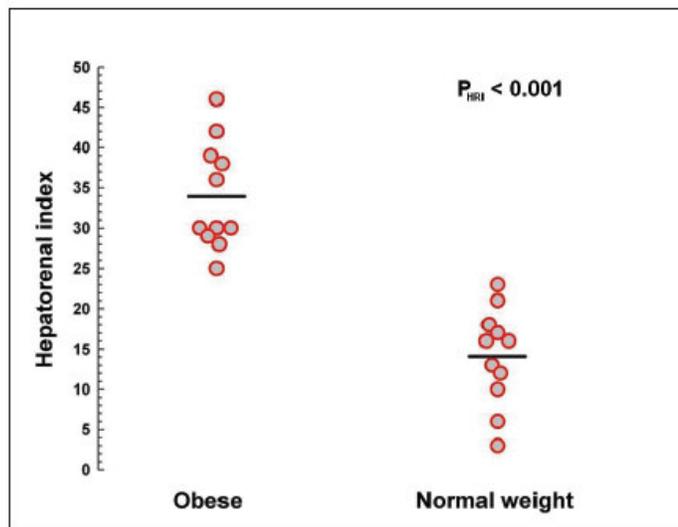


Fig. 5 — Hepatorenal Index of normal-weight and obese children.

(51.9±21.3 versus 57.6±21.4, $p=0.54$) (Figure 2).

The analysis of HRI, which is calculated as the difference in echogenicity between liver parenchyma and kidney cortex (Figures 3 and 4), revealed statistically significant differences between obese and normal-weight children (33.9±6.6 versus 14.1±6.1, $p<0.001$) (Figure 5).

The analysis of laboratory tests of obese and normal-weight children revealed statistically significant differences in the values of glucose ($p=0.034$), insulin ($p=0.008$), triglycerides ($p=0.036$), uric acid ($p<0.001$) and alkaline phosphatase ($p=0.045$). There were no significant differences in the values of total and HDL cholesterol or liver enzymes (Table 1).

DISCUSSION

This study showed that the computer-assisted analysis of HRI with the ImageJ software was a reproducible method. The results of the use of three different ultrasound units and three different gain adjustments in gray scale (low, medium and high) were also reproducible, and there were no statistically significant differences between measurements. The results achieved with the ImageJ analysis software, which is free for download in the Internet, confirmed that it is an accessible, reproducible and easy to use diagnostic

tool for the evaluation of HRI.

The fact that HRI in the group of obese children was different from those in the normal-weight group does not indicate that all obese children had steatosis. HRI values of obese and normal-weight children were 33.9±6.6 and 14.1±6.1. A next step in this research line should determine the HRI of obese children with and without steatosis using liver biopsy and histological examinations. Such study should be conducted with a population of obese children, adolescents and adults, who have laboratory and clinical signs of the disease and indications for liver biopsy, although histological criteria to grade liver steatosis are still far from being consensual [19].

The future determination of whether HRI values can differentiate patients with and without steatosis will allow US to be used as a reliable diagnostic tool for this disease. Therefore, the great variability in the interpretation and grading of HS using US may be reduced, as reported in a retrospective study conducted by Strauss et al., who found low interobserver ($\kappa=0.43$) and intraobserver ($\kappa=0.54$) agreement [20].

Computer-assisted US evaluation of HRI may also be useful in the follow-up of paediatric patients with HS. The degree of fat infiltration may be determined by HRI using objective data to make decisions.

Studies with the same purpose were published in the 90s, and most of them stressed the importance of computer-assisted measurement of HRI in the US investigation of HS [17, 21]. One of these studies, conducted by Jeong et al., evaluated the liver-kidney echogenicity in 54 adult patients with steatosis classified as mild, moderate and severe and without it. They used a gray-scale histogram with complex parameters and calculations, difficult to apply in daily practice, to measure the difference in echogenicity of the liver and the kidney cortex. Their results demonstrated good sensitivity and specificity when compared with clinical scores for steatosis. Differently from previous studies that evaluated only adults and patients with different stages of chronic hepatocellular disease, we evaluated and compared the liver-kidney echogenicity of obese and normal-weight children that had no associated liver diseases, using the ImageJ software and a rapid and simple technique. The study of liver echogenicity of obese and normal-weight children using HRI ruled out possible confounding factors that may also increase liver echogenicity in adults. Therefore, the evaluation of fat infiltration was more adequate. Results accurately determined and differentiated HRI between groups. HRI linear correlation with laboratory tests was satisfactory: insulin, glucose, uric acid and total cholesterol levels were proportionally higher in obese patient with elevated HRI than in the control group.

The test results of children with elevated HRI were within the laboratory's normal reference levels. This may be an indication that the changes in HRI of obese children can be detected earlier using US than using laboratory tests, which take longer to detect changes in normal reference limits. This finding is in agreement with previous studies about metabolic syndrome, and confirms that fat infiltration in the liver is a sign of this syndrome, characterized by increased resistance to insulin and a close association with obesity, diabetes, dyslipidaemia and hypertension [22, 23]. The increase in liver echogenicity, measured by HRI, may be a predictor of metabolic syndrome when detected in children without chronic liver disease or other diseases that cause liver

Computer-assisted US analysis of liver echogenicity in obese and normal-weight children

TABLE 1		Laboratory findings		
Tests	Obese (n=11)	Normal weight (n=11)		
Total cholesterol	154.3 (20.9)	155.6 (12.3)	NS	
HDL cholesterol	43.4 (11.1)	51.5 (9.3)	NS	
Triglycerides	89.3 (37.3)	74.9 (30.7)	p<0.05	
Gpt (Glutamic-pyruvic transaminase)	24.3 (6.2)	35.2 (4.8)	NS	
Got (glutamic-oxaloacetic transaminase)	33.6 (9.8)	27.9 (4.1)	NS	
Alkaline phosphatase	302.6 (232.7)	123.5 (128.6)	p<0.05	
Gamma-gt	18.2 (16.3)	10.4 (7.9)	NS	
Insulin	8.8 (5.3)	6.7 (3.6)	p<0.05	
Glucose	89.6 (6.4)	79.7 (6.3)	p<0.05	
Uric acid	3.8 (0.9)	3.1 (0.5)	p<0.05	

NS, Not significant
 Significant difference (p<0.05)
 Mean values ± (SD)

hyperechogenicity. The comparisons of isolated measurements of liver echogenicity (p=0.19) and of kidney cortex echogenicity values between groups (p=0.54) were not statistically significant. However, when HRI was calculated as the difference in echogenicity between the liver and the kidney cortex, a significant difference was found between the groups of obese and normal-weight children. This may be explained by the fact that there is little or no effect of obesity on the kidney cortex, which, differently from the liver, is spared fat infiltration. This makes the kidney cortex a reliable and constant parameter for the calculation of HRI [24]. One of the limitations of this study was that the number and identity of children with steatosis were unknown. However, clinical and ethical reasons justified not conducting liver biopsies because none of the children had an indication to undergo this procedure. Another limitation was the fact that weights and percentiles, established in the inclusion and exclusion criteria, were substantially different, and that the study population was made up of only obese and normal-weight children, with no over- or underweight children. The fact that US examinations were performed by only one radiologist did not seem to affect results. All US images were obtained according to the examination technique described here and were later evaluated by computer-assisted analysis

without the influence of the examiner. When performed according to our study protocol, computer-assisted analysis of US liver echogenicity using the ImageJ software is a reproducible and easy diagnostic tool to calculate an index (HRI) that is free of examiner's subjectivity and may be used to follow up and control the treatment of fat infiltration in the liver of obese children.

References

- Nanda K. Non-alcoholic steatohepatitis in children. *Pediatr Transplant* 2004;8(6):613-618.
- Dietz WH. The obesity epidemic in young children. Reduce television viewing and promote playing. *BMJ* 2001;322(7282):313-314.
- Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *Lancet* 2002;360(9331):473-482.
- Mei Z, Gnummer-Strawn LM, Scanlon KS. Does overweight in infancy persist through the preschool years? An analysis of CDC Pediatric Nutrition Surveillance System data. *Soc Preventivmed* 2003;48(3):161-167.
- Roberts EA. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in children. *Front Biosci* 2005;10:2306-2318.
- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002;346(16):1221-1231.
- Schuchmann S, Weigel C, Albrecht L, et al. Non-invasive quantification of hepatic fat fraction by fast 1.0, 1.5 and 3.0 T MR imaging. *Eur J Radiol* 2007;62(3):416-422.
- Paik SH, K.P., Kim KW. Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: use of CT for quantitative and qualitative assessment. *Radiology*, 2006. 239: p. 105-112.
- Mendler MH, Bouillet P, Le Sidaner A, et al. Dual-energy CT in the diagnosis and quantification of fatty liver: Limited clinical value in comparison to ultrasound scan and single-energy CT, with special reference to iron overload. *J Hepatol* 1998;28(5):785-794.

- Danet IM, Semelka RC, Braga L. MR imaging of diffuse liver disease. *Radiol Clin N Am* 2003;41(1):67-87.
- Lupsor M, Badea R. Imaging diagnosis and quantification of hepatic steatosis: is it an accepted alternative to needle biopsy? *Rom J Gastroenterol* 2005;14(4):419-425.
- Perez NE, et al. Ultrasound diagnosis of Fatty liver in patients with chronic liver disease: a retrospective observational study. *J Clin Gastroenterol*. 2007;41(6):624-9.
- Graif M, Yamuka M, Baraz M, et al. Quantitative estimation of attenuation in ultrasound video images: correlation with histology in diffuse liver disease. *Invest Radiol* 2000;35(5):319-324.
- Mathiesen UL, Franzén LE, Aselius H, et al. Increased liver echogenicity at ultrasound examination reflects degree of steatosis but not of fibrosis in asymptomatic patients with mild/moderate abnormalities of liver transaminases. *Dig Liver Dis* 2002;34:516-522.
- Joy D, Thava VR, Scott BB. Diagnosis of fatty liver disease: is biopsy necessary? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15(5):539-543.
- Needleman L, Kurtz AB, Rifkin MD, Cooper HS, Pasto ME, Goldberg BB. Sonography of diffuse benign liver disease: accuracy of pattern recognition and grading. *AJR Am J Roentgenol* 1986;146(5):1011-1015.
- Jeong JW, Lee S, Won Lee J, Yoo DS, Kim S. Computer-assisted sonographic analysis of the hepatorenal and textural features for the diagnosis of the fatty liver. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2005;3:3348-3350.
- Maeda K, Utsu M, Kihale PE. Quantification of sonographic echogenicity with grey-level histogram width: a clinical tissue characterization. *Ultrasound Med Biol* 1998;24(2):225-234.
- Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol* 2006;45(4):600-606.
- Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *AJR Am J Roentgenol* 2007;189(6):W320-W323.
- Osawa H, Mori Y. Sonographic diagnosis of fatty liver using a histogram technique that compares liver and renal cortical echo amplitudes. *J Clin Ultrasound* 1996;24(1):25-29.
- D'Adamo E, Impicciatore M, Capanna R, et al. Liver steatosis in obese prepubertal children: a possible role of insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16(3):677-683.
- Chan DF, Li AM, Chu WC, et al. Hepatic steatosis in obese Chinese children. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28(10):1257-1263.
- Yajima Y. Ultrasonographical Significance of the Diagnosis of Fatty Liver: Liver-Kidney Contrast. *Tohoku J Exp Med* 1983;139(1):43-50.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES

Podemos observar que o cálculo do IHR, obtido por análise computadorizada, conforme técnica proposta neste estudo, possibilita quantificar alterações na ecogenicidade hepática de crianças obesas e eutróficas de maneira rápida, acurada e precisa.

Também verificamos que ocorreu correlação significativa entre os exames laboratoriais e os valores de IHR das crianças obesas e eutróficas. Nas crianças obesas com IHR alterado, os níveis sanguíneos de glicose, insulina, triglicerídeos, ácido úrico e fosfatase alcalina estavam proporcionalmente mais elevados em relação aos exames laboratoriais das crianças eutróficas.

Diante disso, concluímos que a método de avaliação da ecogenicidade hepática por análise computadorizada desenvolvida pelos autores, com auxílio do programa ImageJ, é ferramenta diagnóstica acessível, reproduzível e de fácil

utilização na avaliação da EH, que independe do examinador e pode ser utilizada também no acompanhamento e na monitorização do tratamento da infiltração gordurosa do fígado de crianças obesas.

CAPÍTULO V

FIGURAS DO ARTIGO

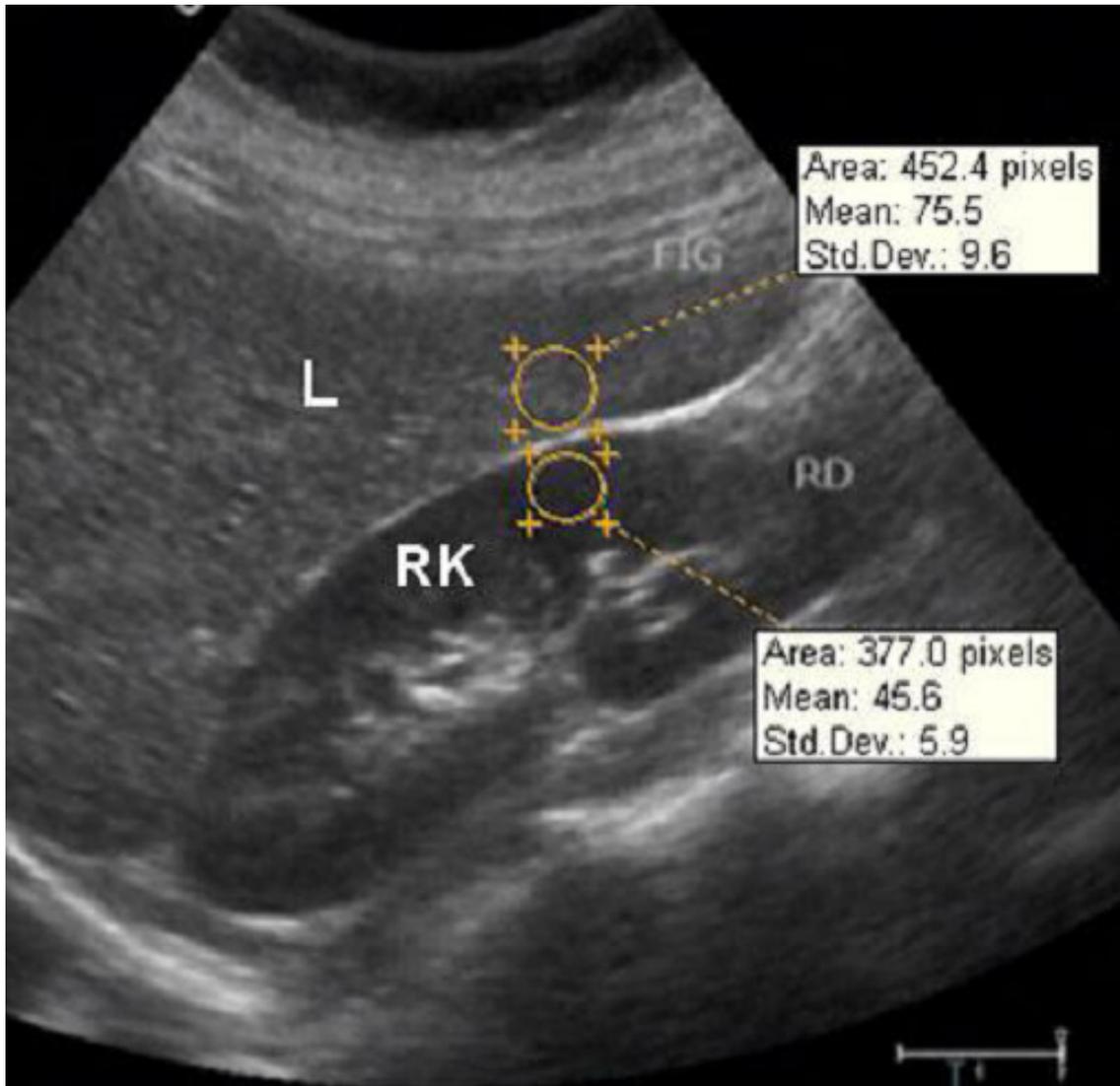


Figure 1 – Digital sonogram of hepatorenal interface for computer-assisted calculation of hepatorenal index (HRI). L=Liver; RK=Right Kidney

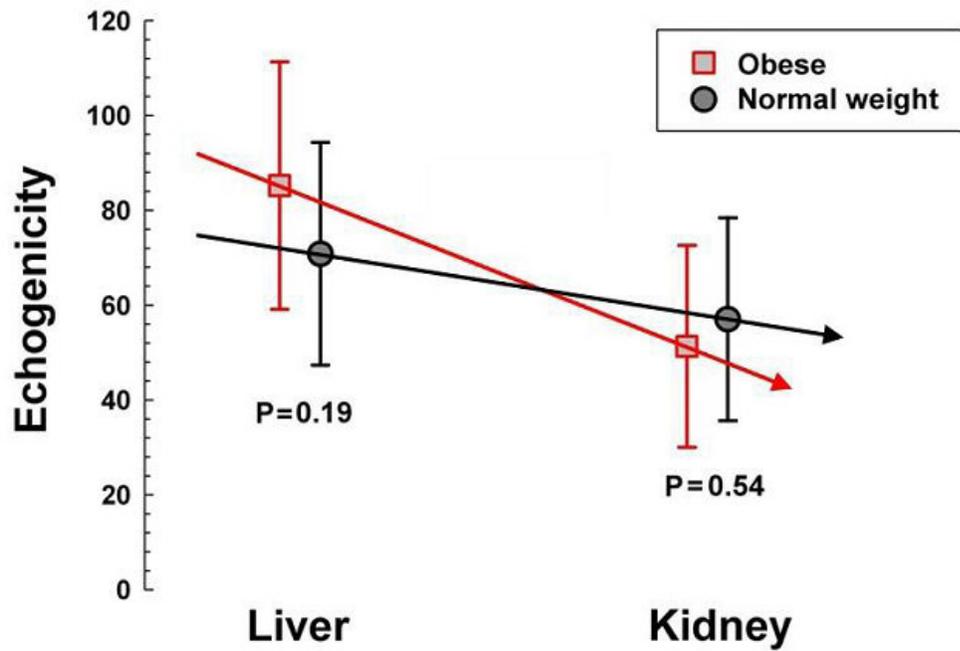


Figure 2 – Liver and kidney echogenicity values of normal-weight and obese children.

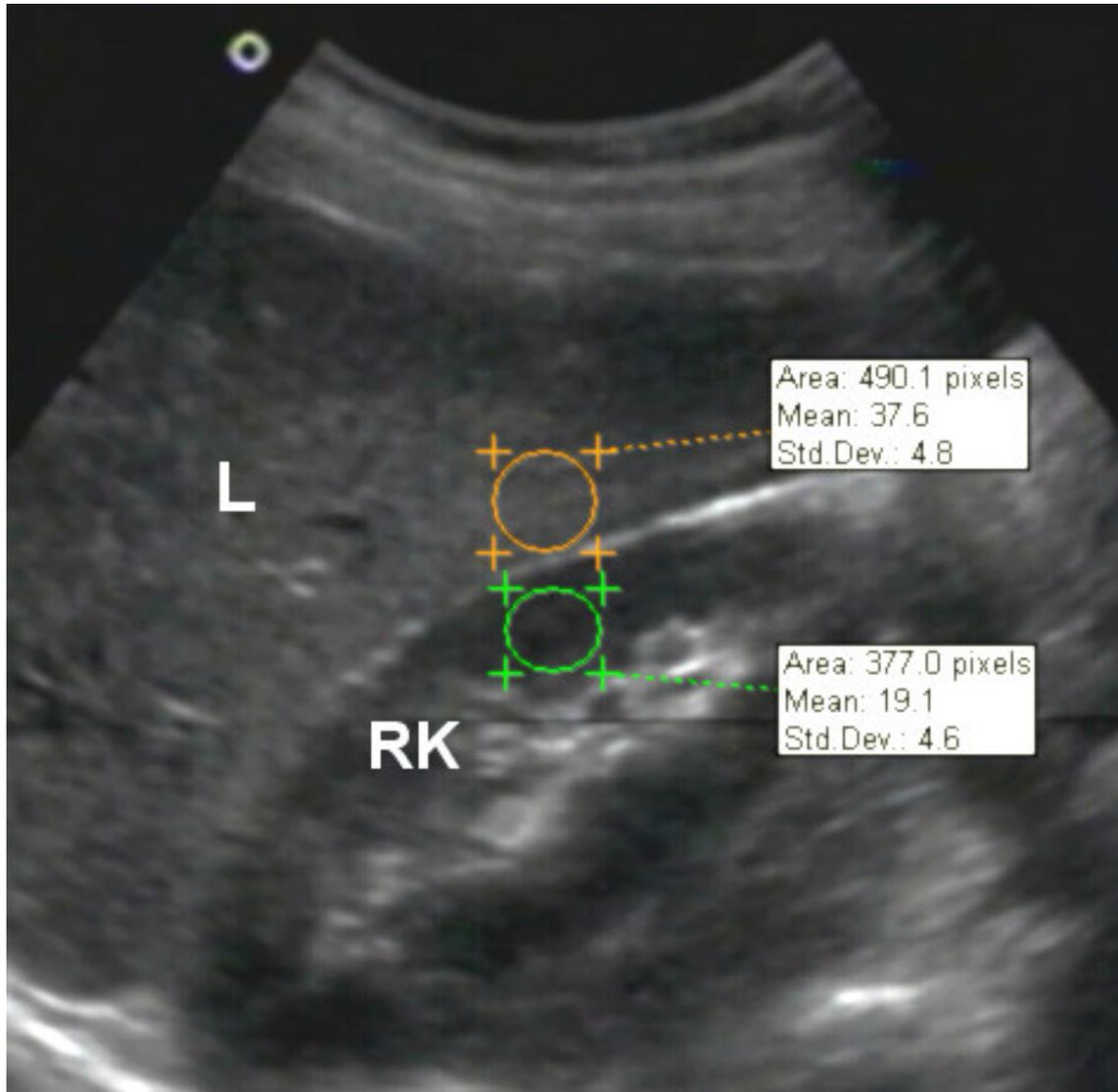


Figure 3 – Normal weight 9-year-old child sonogram. L=Liver,RK = Right Kidney

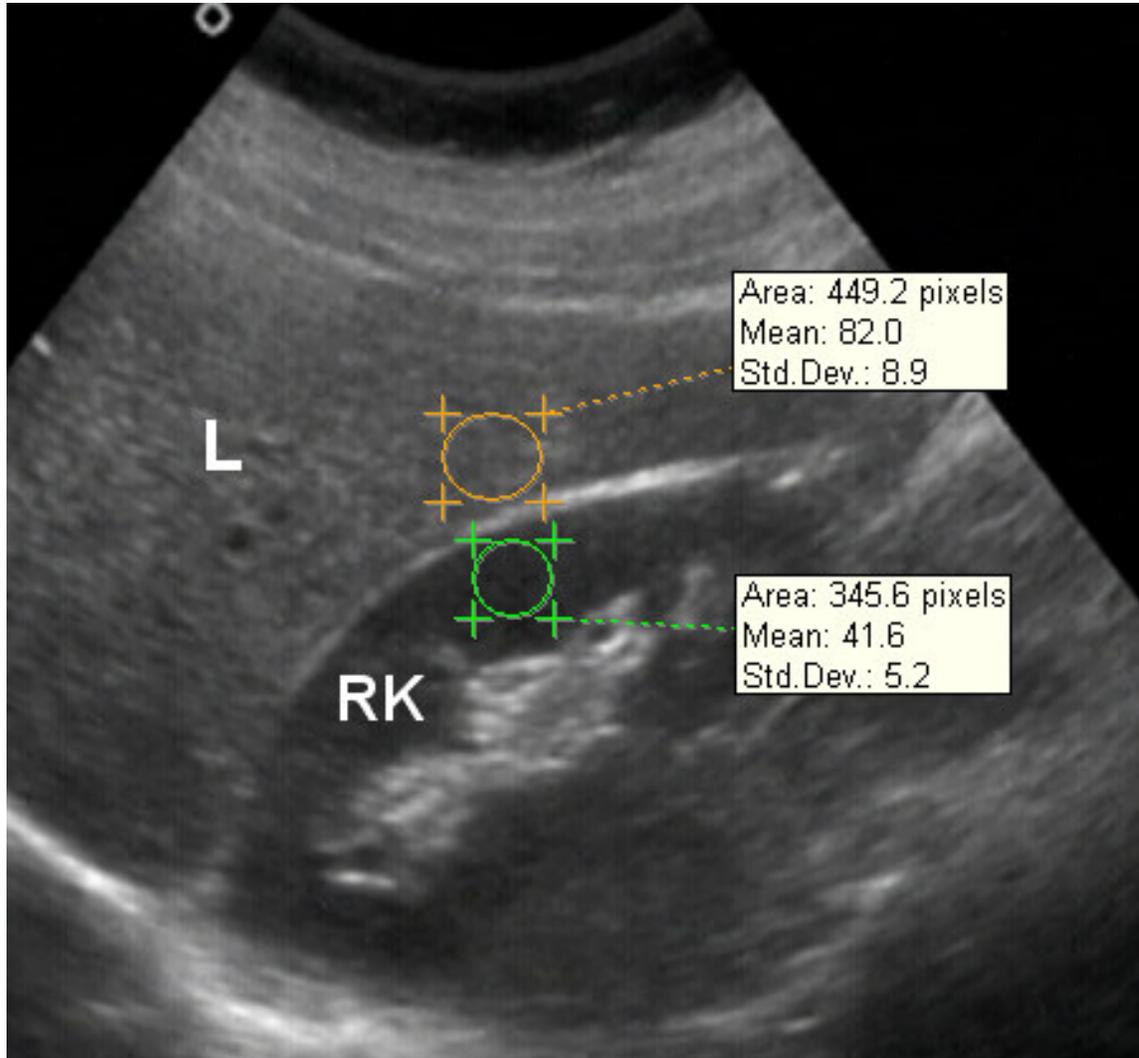


Figure 4 – Obese 10-year-old sonogram.
L= Liver,RK=Right Kidney

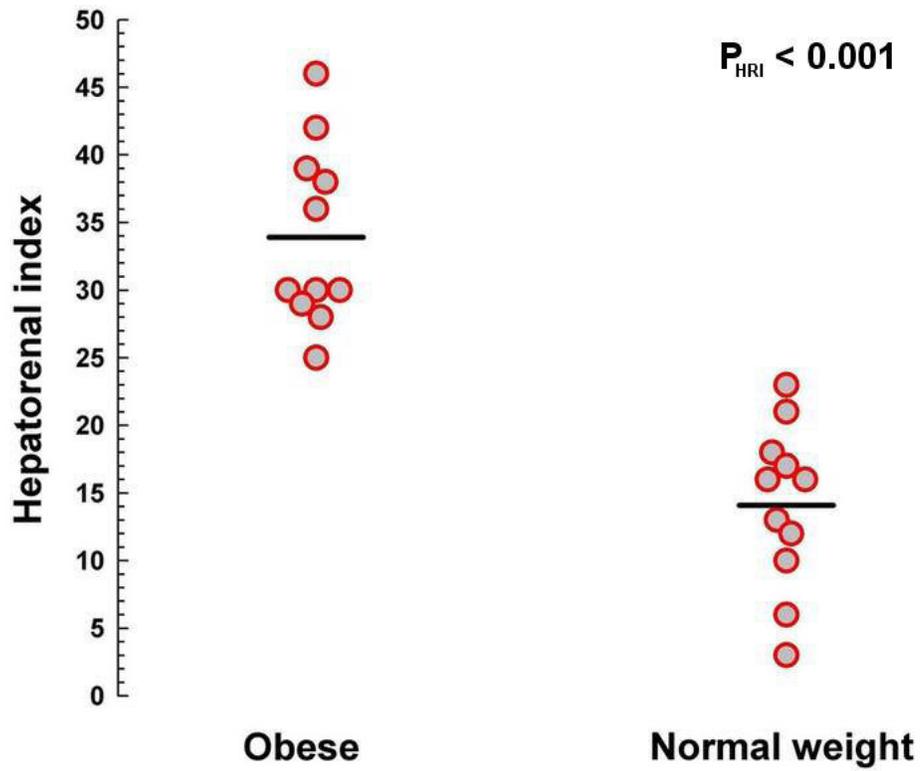


Figure 5 – Hepatorenal index of normal-weight and obese children

TABLE 1 Laboratory findings

Tests	Obese (n=11)	Normal weight (n=11)	
Total cholesterol	154.3 (20.9)	155.6 (12.3)	NS
HDL cholesterol	43.4 (11.1)	51.5 (9.3)	NS
Triglycerides	89.3 (37.3)	74.9 (30.7)	p<0.05
Gpt (Glutamic-pyruvic transaminase)	24.3 (6.2)	35.2 (4.8)	NS
Got (glutamic-oxaloacetic transaminase)	33.6 (9.8)	27.9 (4.1)	NS
Alkaline phosphatase	302.6 (232.7)	123.5 (128.6)	p<0.05
Gamma-gt	18.2 (16.3)	10.4 (7.9)	NS
Insulin	8.8 (5.3)	6.7 (3.6)	p<0.05
Glucose	89.6 (6.4)	79.7 (6.3)	p<0.05
Uric acid	3.8 (0.9)	3.1 (0.5)	p<0.05

NS, Not significant

Significant difference (p<0.05)

Mean values ± (SD)

ANEXOS

Anexo 1 – Carta de Aprovação do Comitê de Ética da PUCRS

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 024/08-CEP

Porto Alegre, 03 de janeiro de 2008.

Senhor(a) Pesquisador(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo registro CEP 07/03980, intitulado: **“Avaliação da ecogenicidade hepática através de análise computadorizada em crianças obesas e eutróficas”**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser entregues a este CEP.

Atenciosamente,


Prof. Dr. José Roberto Goldim
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)
Dr(a) Matteo Baldisserotto - Ricardo Sader
N/Universidade

PUCRS

Campus Central
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar – CEP: 90610-000
Sala 314 – Fone Fax: (51) 3320-3345
E-mail: cep@pucrs.br
www.pucrs.br/prppg/cep

Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar se existe diferença entre a ecogenicidade hepática entre crianças obesas e eutróficas, atendidas no Hospital São Lucas da PUCRS.

Sendo a ultra-sonografia um ferramenta diagnóstica de fácil acesso, baixo custo, sem risco para o paciente e solicitada com frequência para investigação de diversas patologias, o presente estudo pretende examinar os pacientes ambulatoriais, com ultra-sonografia agendada no Serviço de Ultra-sonografia do nosso hospital, que preencham os critérios de inclusão e exclusão e que queiram participar do estudo.

A mesma coleta de sangue utilizada para os exames laboratoriais de rotina, solicitados pelo médico assistente, será usada para esta pesquisa, mediante consentimento informado do paciente e seus pais.

Pelo presente Consentimento Informado, declaro que fui esclarecido, de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, da justificativa, e dos procedimentos que serei submetido.

Fui, igualmente, informado (a):

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca do exame, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
 - da liberdade de retirar meu consentimento informado, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuação de meu cuidado e tratamento;
-

- da segurança de que não serei identificado e que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas com a minha privacidade;

Os Pesquisadores responsáveis por este Projeto de Pesquisa são os médicos Matteo Baldisserotto e Ricardo Bernardi Soder, que estão disponíveis para qualquer esclarecimento adicional nos fones (51) 33203000, ramal 2520 – Dr. Matteo e (51) 98223308 – Dr. Ricardo. O Comitê de Ética em Pesquisa pode ser contatado pelo fone (51) 33203045

Data: ____ de _____ de _____ Porto Alegre / BRASIL

Nome do Paciente:

Nome do Responsável Legal

Assinatura do Responsável Legal

**Anexo 3 – Análise Ultra-Sonográfica da Ecogenicidade Hepática em
Crianças Obesas**

Número ____

Registro: _____ Telefone Contato: _____

Nome: _____

Data Nascimento: __/__/____ Idade: _____ Sexo: _____

Peso Atual: _____ Altura atual: _____ IMC: _____

Circunferência Abdominal: _____

EXAMES LABORATORIAIS (atuais):

	Data: __/__/____	Data: __/__/____
Colesterol Total		
Colesterol HDL		
Triglicerídeos		
TGO		
TGP		
Fosfatase Alcalina		
Gama GT		
Insulina		
Glicemia		
Ácido Úrico		

NÃO INCLUIR CRIANÇAS:

- EM USO DE CORTICÓIDE SISTÊMICO E IMUNOSSUPRESSORES
- DOENÇA HEPATORRENAL

APÊNDICE

Apêndice 1 - Banco de Dados**LEGENDAS**

ac.urico	Ácido úrico
circ_abd	Circunferência abdominal
Col_total	Colesterol total
dp	Desvio padrão
Ecog_Fig	Ecogenicidade do parênquima hepático
Ecog_RD	Ecogenicidade do córtex renal direito
fa	Fosfatase alcalina
gama_gt	Gama glutamil transferase
glic	Glicose
hdl	Colesterol HDL
insul	Insulina
m	média
tgo	Transaminase glutâmico oxalacética
tgp	Transaminase glutâmico pirúvica
trig	Triglicerídeos

OBESOS	Idade	Dif Fig-RD	Ecog_Fig	Ecog_RD	Col_total	hdl	trig	tgo	tgp	fa	gama_gt	insul	glic	ac_urico	circ_abd
1	11	38	90	52	146	50	63	39	38	452	12	7,9	84	3,8	110
2	11	46	160	114	198	61	69	36	42	751	15	21,4	85	4,7	92
3	11	36	86	50	208	50	179	29	34	630	18	22,9	92	6,6	92
4	10	39	80	41	178	53	119	23	19	225	14	14,4	92	5,1	91
5	10	30	75	45	168	44	120	25	33	158	13	6,3	84	3,3	97
6	10	29	71	42	170	43	115	23	22	726	11	11,1	91	5	93
7	9	28	70	42	194	45	106	30	49	245	66	8,9	89	4,5	92
8	9	25	65	40	167	52	48	19	26	411	10	10,3	77	3,5	89
9	8	42	88	46	156	73	61	36	48	228	17	12,6	85	4	85
10	8	30	71	41	158	42	94	26	35	157	7	12,8	102	4,5	73
11	6	30	88	58	145	30	111	28	28	644	12	8,8	86	3,8	67
med	9,363636	33,90909	85,81818	51,90909	171,63636	49,36364	98,63636	28,54545	34	420,6364	17,72727	12,49091	87,90909	4,436364	89,18182
dp	1.566699	6.655142	26.08378	21.34223	20.9584	11.10201	37.35578	6.282732	9.859006	232.7876	16.31006	5.330376	6.4258	0.931958	11.43519

EUTRÓF	Idade	Dif Fig-RD	Ecog_Fig	Ecog_RD	Col_total	hdl	trig	tgo	tgp	fa	gama_gt	insul	glic	ac_urico	circ_abd
12	11	16	60	44	150	61	42	27	34	224	16	5,9	79	2	68
13	11	16	110	94	177	58	43	24	26	617	40	5,5	83	3	65
14	11	13	36	26	164	55	36	30	30	262	17	4,4	81	3,4	67
15	11	18	62	44	174	69	79	31	36	202	17	15,2	85	3,7	63
16	10	17	68	51	171	51	87	33	27	203	13	4,5	78	2,4	64
17	10	12	87	75	157	39	117	27	35	299	13	5,1	95	3,8	68
18	9	6	85	79	160	50	81	23	27	190	20	9,1	87	3,1	64
19	9	3	53	50	139	41	79	29	26	225	14	3,9	71	3,3	64
20	8	23	99	76	145	67	22	39	35	186	11	3,5	85	3	55
21	8	21	83	62	172	56	100	34	28	158	14	11,4	77	3	57
22	7	10	42	32	162	55	39	35	26	171	15	5,5	78	2,7	53
med	9,545455	14,09091	71,36364	57,54545	161	54,72727	65,90909	30,18182	30	248,8182	17,27273	6,727273	81,72727	3,036364	62,54545
dp	1.439697	6.073789	23.45324	21.37458	12.385475	9.371136	30.70979	4.854239	4.147288	128.621	7.925792	3.665813	6.325993	0.53155	5.203146