

# Fígado Gordo Não Alcoólico: Revisão da Literatura

## *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Literature Review*

Luís Costa Matos<sup>1</sup>

**Autor Correspondente:**

Luís Costa Matos [luis.matos@jmellosaude.pt]

Hospital CUF Viseu, Rua do Belo Horizonte, nº 12 e 14, 3500-612 Viseu, Portugal

### **RESUMO:**

O fígado gordo não alcoólico é uma situação extremamente frequente na prática clínica, e rapidamente se está a tornar uma epidemia do mundo desenvolvido.

Pode ser uma doença evolutiva, causadora de cirrose e insuficiência hepática terminal, ocupando já em alguns países um lugar destacado como causa de transplante hepático.

Pretende-se fazer uma revisão da literatura e apresentar sucintamente os conceitos de gordo/esteato-hepatite, rever os meios e estratégias diagnósticas, a evolução e o prognóstico, e as formas de tratamento atuais e previsíveis num futuro próximo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Hepatopatia Gordurosa não Alcoólica

### **ABSTRACT:**

*Non-alcoholic fatty liver disease is a very common finding in clinical practice, and it is quickly becoming a developed world epidemic.*

*It may progress to cirrhosis and terminal liver failure, and in some countries it is already a major indication for liver transplantation.*

*We aim to do a literature review and briefly present the concepts of fatty liver / steatohepatitis, to review diagnosis methods, disease evolution and prognosis, and to approach current treatment strategies and the foreseeable ones in near future.*

**KEYWORDS:** Non-alcoholic Fatty Liver Disease

1. Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal. Serviço de Medicina Interna, Hospital CUF Viseu, Viseu, Portugal.

Recebido: 06/01/2017 - Aceite: 10/02/2017

## INTRODUÇÃO

A esteatose hepática corresponde à acumulação anormal de gordura nos hepatócitos. Histologicamente, a forma mais frequente é a esteatose macrovesicular, envolvendo pelo menos mais de 5% dos hepatócitos da amostra,<sup>1</sup> podendo ser identificados grandes vacúolos lipídicos, que ocupam a maior parte do citoplasma, deslocando o núcleo e os outros organelos para a periferia. Estes vacúolos contêm triglicerídeos, ácidos gordos, monoglicerídeos e diglicerídeos. A esteatose é geralmente mais marcada na parte centrolobular (zonas 2 e 3), mas pode ser difusa em casos mais avançados. A quantificação é normalmente qualitativa, estimando-se a percentagem de hepatócitos afetados: menos de 25%, de 25 a 50%, de 50 a 75% e mais de 75%.<sup>2,3</sup>

Menos frequente é o aparecimento de esteatose microvesicular (pequenos e múltiplos vacúolos lipídicos que não deslocam o núcleo do hepatócito), que corresponde geralmente a uma manifestação de citopatia mitocondrial e ribossômica. Independentemente da causa, é um quadro que traduz um mau prognóstico, com risco elevado de morte por falência hepática.<sup>4,5</sup>

Na Tabela 1 podem-se observar as causas conhecidas de esteatose hepática.

**TABELA 1. Causas de esteatose hepática.**

Esteatose Macrovesicular	Esteatose Microvesicular
Alimentação parenteral total	Degeneração alcoólica espumosa
Desnutrição	Fígado gordo agudo da gravidez
Doença inflamatória intestinal	Síndrome de Reye
Caquexia	Vários fármacos e toxinas
Derivação jejunoileal	Ingestão de <i>Blighia sapida</i>
Galactosemia	Picadas múltiplas de vespas
Doenças de armazenamento do glicogénio	Doenças hereditárias do ciclo da ureia ou do metabolismo dos ácidos gordos
Abetalipoproteinemia	Deficiência de lipase ácida lisossômica
Tirosinemia	Febre de Lábrea
Infeção a VHC (++) genótipo 3)	<i>Bacillus cereus</i>
Álcool	Citopatias mitocondriais (síndrome de Pearson)
Corticoides	
Metotrexato	
Varfarina	
Troglitazona	
Síndrome metabólica	

## DEFINIÇÃO DE FÍGADO GORDO NÃO ALCOÓLICO

Dentro desta grande variedade de quadros clínicos, o fígado gordo não alcoólico (FGNA) define-se pelo excesso de acumulação de lípidos a nível hepático, associado com insulinoresistência, na ausência de outras causas de esteatose, e com consumos alcoólicos inferiores a 30 g/dia (ou 21 doses de bebida por semana) nos homens e 20 g/dia (ou 14 doses de bebida por semana) na mulher. É condição essencial a demonstração de mais de 5% de hepatócitos esteatósicos numa análise histológica, ou então, recorrendo a métodos não invasivos, mais de 5,6% de gordura no fígado avaliada por ressonância magnética (RM) com quantificação de água/gordura ou espectroscopia por RM (<sup>1</sup>H-MRS).<sup>6-8</sup>

Esta acumulação de lípidos que caracteriza o FGNA pode-se traduzir em dois quadros clínicos e histológicos, de gravidade e prognóstico distintos, a simples esteatose hepática, ou a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), conforme a ausência ou a presença de inflamação tecidual. Esta última só é usualmente demonstrável com a realização de uma biopsia, e a sua relevância clínica é a possibilidade de evolução para fibrose hepática significativa, cirrose e as complicações desta, nomeadamente insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular.<sup>6</sup>

## EPIDEMIOLOGIA

O FGNA pode representar até quase metade (46%) de toda a patologia hepática nos países ocidentais.<sup>9</sup> A sua verdadeira incidência e prevalência é difícil de avaliar, até porque a maioria dos casos são assintomáticos. Estudos populacionais estimam a sua incidência entre os 20 e os 86 casos por mil pessoas por ano,<sup>10-12</sup> e calcula-se que a sua prevalência na população em geral possa atingir valores entre os 20-30%. Cerca de 2-3% desta população pode apresentar um quadro de esteato-hepatite não alcoólica.<sup>13</sup> No entanto, alguns grupos populacionais em cuidados de saúde primários, como nos Estados Unidos, em que o índice de massa corporal (IMC) médio de uma população entre os 18 e os 70 anos era de 29,8 kg/m<sup>2</sup>, a prevalência de FGNA era de 46%, com EHNA demonstrada em 12,2% da população total.<sup>14</sup>

A questão de efetuar programas de rastreio populacional é complexa, já que os testes não invasivos têm geralmente um valor preditivo baixo para a presença de inflamação, a biopsia hepática comporta riscos, e na verdade, para além de medidas higieno-dietéticas, pouco mais há a oferecer em termos de tratamento. No entanto, a existência de esteato-hepatite deve ser identificada em doentes em risco de evoluir para fibrose avançada,

nomeadamente naqueles com mais de 50 anos e com diabetes tipo 2 ou síndrome metabólica.<sup>6</sup> De facto, se nos focarmos apenas em populações particulares, como em doentes com obesidade mórbida submetidos a cirurgia bariátrica, mais de 90% apresentavam FGNA e até 5% cirrose. Até 69% dos doentes diabéticos tipo 2 apresentam ecografias abdominais sugestivas de esteatose, o mesmo acontecendo com metade dos doentes seguidos num centro terciário de lipidologia.<sup>7</sup>

## FISIOPATOLOGIA

A fisiopatologia do FGNA está intensamente relacionada com estilos de vida não saudáveis, que combinam sedentarismo, dietas hipercalóricas, excesso de gorduras saturadas, hidratos de carbono refinados, e ingestão elevada de frutose como aditivo alimentar a um sem número de produtos processados.<sup>15-17</sup> De salientar que existem indivíduos com uma predisposição genética para o desenvolvimento do FGNA, esteato-hepatite e evolução fibrogénica, sendo que polimorfismos nos genes PNPLA3 e TM6SF2 foram associados a este quadro.<sup>18,19</sup>

É frequente o achado de autoanticorpos nos doentes com FGNA, mas pensa-se ser apenas um epifenómeno, e não contribuir para a fisiopatologia desta doença.<sup>20</sup>

## CLÍNICA

A maior parte dos doentes é completamente assintomática no que diz respeito a manifestações relacionadas com patologia hepática. Normalmente o FGNA é diagnosticado no seguimento de alterações das transaminases em análises “de rotina” ou do aparecimento de imagens sugestivas numa ecografia abdominal solicitada por outros motivos.

## DIAGNÓSTICO

O diagnóstico certo e definitivo de esteato-hepatite é apenas possível de ser efetuado mediante uma biopsia hepática. Para tal, é necessária a coexistência de esteatose, balonização dos hepatócitos e inflamação lobular. Podem estar presentes outras alterações características como inflamação portal, infiltrado de leucócitos polimorfonucleares, corpos de Mallory-Denk, corpos apoptóticos, núcleos glicogenados, esteatose microvesicular, megamitocôndrias e fibrose peri-sinusoidal, mas estas não são necessárias para o diagnóstico.<sup>6</sup>

Na Fig. 1 pode observar-se a histologia de uma biopsia hepática de um doente nosso, onde se identificam múltiplos hepatócitos esteatósicos com o núcleo deslocado para a periferia, algum infiltrado inflamatório,

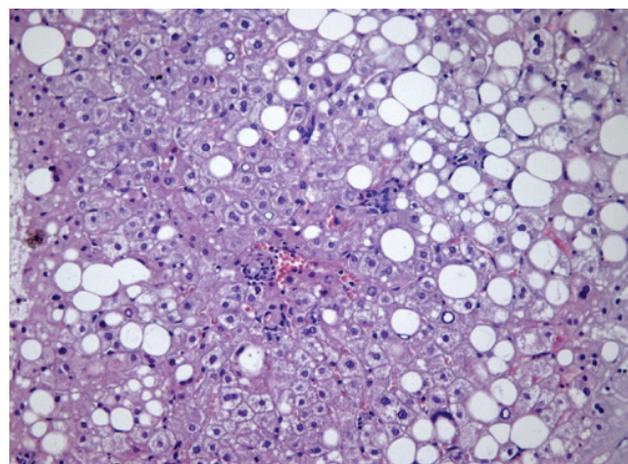


FIGURA 1. Histologia de uma biópsia hepática.

balonização de hepatócitos (aumentados de volume e com citoplasma “espumoso”, mas com núcleo central, e alguns núcleos glicogenados).

A gravidade histológica da doença deve ser aferida por escalas de avaliação bem validadas, como o NAFLD *activity score* (NAS) ou o *steatosis, activity and fibrosis score* (SAF).<sup>21,22</sup>

Apesar de tudo, é sempre bom lembrar que a biópsia hepática é um exame invasivo, desconfortável, e não isento de riscos. Deste modo, é aconselhável uma estratégia que inicie a abordagem por métodos não invasivos de avaliação.

O padrão-ouro da deteção de esteatose hepática é a ressonância magnética nuclear, com excelente sensibilidade e especificidade, permitindo mesmo através de determinadas técnicas (1H-MRS) a quantificação precisa da quantidade de gordura no fígado, tendo apenas limitações nos quadros de sobrecarga de ferro. No entanto, dado o custo e falta de acessibilidade da ressonância magnética, o primeiro exame de imagem na suspeita de esteatose é, normalmente, a ecografia abdominal. A sensibilidade desta é mais baixa, pois tem dificuldade em afirmar a presença de esteatose quando menos de 20% dos hepatócitos estão sobrecarregados com gordura, para além de ser dependente do operador e de ter limitações técnicas em indivíduos obesos com um panículo adiposo abundante. Apesar disto, a ecografia evidencia com alguma facilidade a esteatose moderada a grave, bem como permite adquirir no mesmo tempo informação sobre a morfologia das estruturas hepatobiliares.<sup>23,24</sup>

Na pesquisa de esteatose hepática, a tomografia computadorizada (TC) acaba por acrescentar pouco à ecografia.<sup>25</sup>

Existem algumas escalas de avaliação de parâmetros biológicos e antropométricos que foram validados para inferir a presença de esteatose (mas não a sua gravidade) – o *fatty liver index* (FLI), o Steatotest<sup>®</sup> e o NAFLD

*liver fat score*. Têm a vantagem de prever também o aparecimento de complicações metabólicas, hepáticas e cardiovasculares.<sup>26</sup> No entanto, têm mais aplicabilidade em estudos populacionais/epidemiológicos, pois, considerando o indivíduo, a esteatose deve ser identificada preferencialmente por ecografia.

Identificada a presença de esteatose, os exames de imagem, mesmo associados a exames bioquímicos, pouco podem fazer para demonstrar a presença de balonização hepatocitária e inflamação lobular, que definem a presença de esteato-hepatite.<sup>27</sup> Foi aventada a utilidade do doseamento de fragmentos de citoqueratina 18 (CK-18) mas a verdade é que tem uma baixa sensibilidade para o diagnóstico.<sup>28</sup> Neste momento, não existe nenhum teste não invasivo validado para o diagnóstico de esteato-hepatite, sendo necessária a biópsia para afirmar a sua presença.<sup>6</sup>

No entanto, no que respeita à presença de fibrose, é possível pelo menos excluir os seus graus mais avançados sem recorrer a exames invasivos. Um conjunto de parâmetros bioquímicos e, em alguns casos antropométricos, permitem calcular escalas como o NAFLD *fibrosis score* (NFS), *fibrosis 4 calculator* (FIB-4), *enhanced liver fibrosis* (ELF), FibroTest® e outros. Estes testes são muito úteis para excluir a fibrose avançada ( $\geq$ F3), pois o valor preditivo negativo para a presença da mesma é muito elevado.<sup>29,30</sup>

Outro meio complementar de diagnóstico já bastante difundido para avaliação não invasiva da fibrose hepática é a elastografia transitória. No entanto, é de salientar que pode apresentar algumas limitações em doentes obesos, mesmo com sondas “XL”.<sup>31</sup>

Portanto, com os meios acima descritos à disposição, interessa sistematizar a investigação de um doente com FGNA (Tabela 2). A descoberta acidental de esteatose num exame de imagem deve conduzir a uma avaliação da história pessoal e familiar e procura de doenças associadas a este quadro, nomeadamente a síndrome metabólica, a obesidade e a diabetes tipo 2, para além da exclusão de causas secundárias de esteatose (Tabela 1).

Nos doentes com esteatose documentada por um exame de imagem, no caso de serem obesos, diabéticos tipo 2, ou apresentarem alteração nas enzimas de citólise hepática, é prudente efetuar uma avaliação não invasiva acerca da presença de fibrose hepática significativa. Os métodos atrás descritos (NFS, FIB-4, ELF or FibroTest®) são aceitáveis; se não for possível excluir fibrose significativa, está recomendada a avaliação da mesma por elastografia transitória. Se ainda assim o diagnóstico do grau de fibrose não for conclusivo, está então recomendada a sua aferição por meio de biópsia hepática.<sup>6</sup>

TABELA 2. Avaliação de doentes com suspeita de FGNA.

Abordagem	Variável
Inicial	Ingestão alcoólica (<20 g/dia nas mulheres, <30 g/dia nos homens)
	História pessoal e familiar de diabetes, HTA, doença cardiovascular
	IMC, perímetro abdominal, variação no peso corporal
	Ag Hbs, Ac Anti-HBc, Ac Anti-VHC
	História medicamentosa
	AST, ALT, GGT
	Glicemia em jejum, HbA1c, PTGO, HOMA-IR
	Hemograma
	Ecografia abdominal
	Ampliada
Exclusão de doença celíaca, patologia tiroidea, síndrome ovário poliquístico	
Exclusão doença de Wilson, HAI / CBP / CEP, deficiência de alfa-1 antitripsina	

HTA - hipertensão arterial; IMC - índice de massa corporal; HAI - hepatite autoimune; CBP - colangite biliar primária; CEP - colangite esclerosante primária.

## TRATAMENTO

É importante otimizar o tratamento do quadro metabólico (diabetes, síndrome metabólica, obesidade, dislipidemia) que se associa ao FGNA. Os objetivos terapêuticos são os que constam nas linhas de orientação nacionais e internacionais dessas respetivas patologias.

Muitas vezes há relutância em insulinar os doentes diabéticos com receio do agravamento da esteatose por hiperinsulinismo, mas a verdade é que foi já demonstrado que, apesar de ser uma hormona lipogénica, a administração de insulina não predispõe ou agrava o FGNA existente.<sup>32</sup>

São fundamentais medidas no estilo de vida, com a prática de exercício físico regular aeróbico e perda de peso por restrição calórica na dieta.<sup>33</sup> Mesmo ligeiras perdas de quantidade de gordura corporal estão relacionadas com a redução da quantidade de gordura hepática e da resistência à insulina.<sup>34</sup>

Para além disso, a redução de peso mostrou em dois estudos, uma melhora ou mesmo desaparecimento da inflamação a nível histológico, em casos documentados de esteato-hepatite.<sup>35,36</sup> Em casos de obesidade grave com FGNA e esteato-hepatite associadas, a cirurgia bariátrica mostrou também promover a melhoria histológica da inflamação e até da fibrose hepática.<sup>37,38</sup>

Em termos de tratamento farmacológico, estamos longe de dispor da situação ideal. A verdade é que, até ao momento, não há nenhum fármaco aprovado com a indica-

ção específica de tratamento do FGNA, sendo o seu uso maioritariamente *off-label*.

Estando o FGNA tão associado com a insulinoresistência e a diabetes tipo 2, seria de esperar que os medicamentos antidiabéticos pudessem melhorar aquela condição.

A pioglitazona parece melhorar todas as alterações histológicas (exceto a fibrose) comparada com placebo, quando usada em doentes com FGNA não diabéticos.<sup>39</sup> No entanto, há que ponderar os seus numerosos efeitos secundários, sendo melhor empregue em doentes diabéticos, onde está formalmente indicada.

Já acerca do uso de metformina, existe pouca evidência que promova melhoria histológica.<sup>40,41</sup> Os miméticos das incretinas, nomeadamente o liraglutido, parece promissor, mas necessita de estudos mais alargados.<sup>42</sup>

No mesmo estudo onde a pioglitazona mostrou alguma eficácia, também a administração de vitamina E na dose de 800 mg por dia mostrou ser superior ao placebo no que respeita à melhoria histológica e mesmo resolução da esteato-hepatite.<sup>38</sup> No entanto, apresenta algumas preocupações em termos de segurança (aumento da mortalidade, do acidente vascular cerebral hemorrágico e do cancro da próstata). Pode ser usado em doentes não diabéticos, mas necessita também de mais evidência para ser abertamente recomendado o seu uso.<sup>6</sup>

O ácido ursodesoxicólico foi também investigado, mas com resultados desapontantes, já que as melhorias bioquímicas não foram acompanhadas de qualquer melhoria ou resolução histológica do quadro.<sup>43-45</sup>

Já o ácido obeticólico parece bem mais promissor. Em estudos de fase II, melhorou significativamente todas as lesões histológicas, incluindo a fibrose.<sup>46</sup> Esta molécula é um agonista dos recetores farnesoides X, pertencentes a uma família de recetores nucleares hormonais envolvidos em fenómenos de insulinoresistência, equilíbrio de adipocinas / citocinas, stress oxidativo, metabolismo de lípidos e hidratos de carbono, e mesmo desenvolvimento de fibrogénese hepática.<sup>47</sup> Aguardam-se estudos mais alargados de fase III.

Estudos acerca de ácidos gordos poli-insaturados, pentoxifilina, orlistat e ezetimibe foram negativos ou inconclusivos.<sup>6</sup>

Curiosamente as estatinas nunca foram adequadamente estudadas quanto à melhoria bioquímica ou histológica do FGNA, e muitas vezes evita-se o seu uso em doentes com alterações das enzimas de citólise hepática por receio de hepatotoxicidade. No entanto, a sua prescrição neste contexto parece ser completamente segura, podendo até reduzir o nível de transaminases.<sup>48</sup>

Nos quadros de FGNA, é frequente uma sobrecarga moderada de ferro, associada ao quadro inflamatório hepático, que pode induzir uma deficiência relativa de hepcidina. Este quadro é conhecido como DIOS (*dysmetabolic iron overload syndrome*).<sup>49,50</sup> É controversa a remoção do excesso de ferro por meio de flebotomias; há relatos sobre a melhoria da resistência à insulina<sup>51</sup> e até da gravidade da esteato-hepatite no FGNA,<sup>52</sup> no entanto um estudo recente não mostrou estes benefícios, associando as flebotomias a ganho ponderal e a má tolerância por parte dos doentes.<sup>53</sup>

## SEGUIMENTO E PROGNÓSTICO

De uma forma geral, o FGNA é uma doença de progressão lenta, estimando-se que a progressão de um grau de fibrose para o outro demore cerca de 14 anos com a existência de esteatose isolada, valor que baixa para 7 anos quando é feito o diagnóstico de esteato-hepatite. De referir que a existência concomitante de hipertensão arterial acelera significativamente esta progressão.<sup>54</sup>

Ao contrário da presença apenas de esteatose, a presença de esteato-hepatite está associada a uma taxa de mortalidade maior, comparada com a população em geral. As causas de morte mais frequentes são a doença cardiovascular, neoplasias e doença hepática crónica.<sup>55</sup>

Com efeito, sabe-se agora que a maioria das cirroses “criptogénicas”, como eram classificadas até há algum tempo, correspondem na verdade a esteato-hepatites não alcoólicas evoluídas, em que o desenvolvimento de fibrose e nódulos de regeneração se sobrepõem às características histológicas da esteato-hepatite; estes doentes com cirrose sem causa aparente apresentam também uma prevalência desproporcional de fatores de risco metabólicos.<sup>56,57</sup>

A presença de obesidade e diabetes tipo 2 foram ligados a uma incidência mais alta de carcinoma hepatocelular (até 10 vezes nos casos associados a FGNA).<sup>58</sup> De referir também que, neste momento, os casos de FGNA constituem já a segunda causa de transplante por carcinoma hepatocelular nos Estados Unidos da América.<sup>59</sup>

## CONCLUSÃO

O FGNA representa já a maioria dos doentes presentes numa consulta de hepatologia. Previamente conotado como uma condição benigna e com pouco interesse, tem-se vindo a verificar uma verdadeira epidemia de fibrose e cirrose hepática evoluídas em doentes sem outros fatores desencadeantes que não a EHNA. Fortemente associado com estilos de vida não saudáveis, esta patologia é cada vez mais prevalente nos países de-

envolvidos, estando claramente associada à obesidade, diabetes e síndrome metabólica.

É necessário identificar os doentes com FGNA e referenciá-los a uma consulta de hepatologia, para seguimento e vigilância do grau de fibrose hepática.

O tratamento mais eficaz e até agora o único validado para o FGNA/EHNA é a perda de peso, dieta saudável e exercício físico. Os tratamentos farmacológicos são escassos e de uso empírico, estando a grande esperança neste caso associada à entrada no mercado do ácido obeticolico, com resultados muito promissores.

**CONFLITOS DE INTERESSE:** Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

**FONTES DE FINANCIAMENTO:** Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

## REFERÊNCIAS

- Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histologic scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005; 41: 1313–21.
- Sherlock S, Dooley J. *Diseases of the Liver and Biliary System*. 11<sup>th</sup> ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2007.
- Costa Matos L. Doença hepática alcoólica. *Med Intern*. 2006;13:207–16.
- Fromenty B, Pessayre D. Inhibition of mitochondrial beta-oxidation as a mechanism of hepatotoxicity. *Pharmacol Ther*. 1995;67:101–54.
- Sherlock S. Acute fatty liver of pregnancy and the microvesicular fat diseases. *Gut*. 1983;24:265–9.
- EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016;64:1388–402.
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*. 2012;55:2005–23.
- Sanyal AJ, Brunt EM, Kleiner DE, Kowdley DE, Chalasani N, Lavine JE, et al. End points and clinical trial design for non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2011;54:344–33.
- Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34:274–85.
- Suzuki A, Angulo P, Lymp J, St Sauver J, Muto A, Okada T, Lindor K. Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population. *Hepatology*. 2005;41:64–71.
- Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, et al. The metabolic syndrome as a predictor of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med*. 2005;143:722–8.
- Marchesini G, Mazzotti A. NAFLD incidence and remission: only a matter of weight gain and weight loss? *J Hepatol*. 2015;62:15–7.
- Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease—meta-analytic assessment of prevalence, incidence and outcomes. *Hepatology*. 2016;64:73–84.
- Williams CD, Stenger J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*. 2011;140:124–31.
- Barrera F, George J. The role of diet and nutritional intervention for the management of patients with NAFLD. *Clin Liver Dis*. 2014;18:91–112.
- Chiu S, Sievenpiper JL, de Souza RJ, Cozma AI, Mirrahimi A, Carleton AJ, et al. Effect of fructose on markers of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *Eur J Clin Nutr*. 2014;68:416–23.
- Gerber L, Otgonsuren M, Mishra A, Escheik C, Biredinc A, Stepanova M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated with low level of physical activity: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;36:772–81.
- Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, Galmozzi E, Rametta R, Dongiovanni P, et al. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;51:1209–17.
- Dongiovanni P, Petta S, Maglio C, Fracanzani AL, Pipitone R, Mozzi E, et al. Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology*. 2015;61:506–14.
- Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: selected practical issues in their management. *Hepatology*. 2009;49:306–17.
- Bedossa PFLIP Pathology Consortium. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014;60:565–75.
- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA, Network NCR. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*. 2011;53:810–20.
- Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol*. 2011;21:87–97.
- Fishbein M, Castro F, Cheruku S, Jain S, Webb B, Gleason T, et al. Hepatic MRI for fat quantitation: its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound. *J Clin Gastroenterol*. 2005;39:619–25.
- Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123:745–50.
- Fedchuk L, Nascimbeni F, Pais R, Charlotte F, Housset C, Ratzu V, et al. Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40: 1209–22.
- Machado MV, Cortez-Pinto H. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal. *J Hepatol*. 2013;58:1007–19.
- Cusi K, Chang Z, Harrison S, Lomonaco R, Bril F, Orsak B, et al. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2014;60:167–74.
- Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology*. 2008;47:455–60.

30. European Association for the Study of the Liver, Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol.* 2015;63:237–64.
31. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010;51:454–62.
32. Juurinen L, Tiikkainen M, Hakkinen AM, Hakkarainen A, Yki-Jarvinen H. Effects of insulin therapy on liver fat content and hepatic insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292: E829–E835.
33. Rodriguez B, Torres DM, Harrison SA. Physical activity: an essential component of lifestyle modification in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9:726–31.
34. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Lehrke M, Hendler RE, Shulman GI. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2005;54:603–8.
35. Promrat K, Kleiner DE, Niemeier HM, Jackvony E, Kearns M, Wands JR, et al. Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2010;51:121–9.
36. Vilar-Goméz E, Martínez-Peréz Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight loss via lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2015;149:367–378; quiz e14–e15.
37. Caiazzo R, Lassailly G, Leteurre E, Baud G, Verkindt H, Raverdy V, et al. Roux-en-Y gastric bypass versus adjustable gastric banding to reduce nonalcoholic fatty liver disease: a 5-year controlled longitudinal study. *Ann Surg.* 2014;260:893–98.
38. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J, et al. Bariatric surgery reduces features of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Gastroenterology.* 2015;149:377–88.
39. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2010;362:1675–85.
40. Haukeland JW, Konopski Z, Eggesbo HB, von Volkmann HL, Raschpichler G, Bjoro K, et al. Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44:853–60.
41. Shields WW, Thompson KE, Grice GA, Harrison SA, Coyle WJ. The effect of metformin and standard therapy versus standard therapy alone in nondiabetic patients with insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a pilot trial. *Therap Adv Gastroenterol.* 2009;2:157–63.
42. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomized, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet.* 2016;387:679–90.
43. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology.* 2004;39:770–8.
44. Dufour JF, Oneta CM, Gonvers JJ, Bihl F, Cerny A, Cereda JM, et al. Randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid with vitamin E in nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4:1537–43.
45. Leuschner UF, Lindenthal B, Herrmann G, Arnold JC, Rossle M, Cordes HJ, et al. High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology.* 2010;52:472–9.
46. Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Sanyal AJ, Lavine JE, Van Natta ML, Abdelmalek MF, et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2015;385:956–65.
47. Arrese M, Cabrera D, Barrera F. Obeticholic acid: expanding the therapeutic landscape of NASH. *Ann Hepatol.* 2015;14:430–2.
48. Dongiovanni P, Petta S, Mannisto V, Mancina RM, Pipitone R, Karja V, et al. Statin use and nonalcoholic steatohepatitis in at risk individuals. *J Hepatol.* 2015;63:705–12.
49. Rametta R, Dongiovanni P, Pelusi S, Francione P, Iuculano F, Borroni V, et al. Hepcidin resistance in dysmetabolic iron overload. *Liver Int.* 2016;36:1540–8.
50. Britton LJ, Subramaniam VN, Crawford DH. Iron and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2016;22:8112–22.
51. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Bugianesi E, Marchesini G, Manzini P, et al. Iron depletion by phlebotomy improves insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease and hyperferritinemia: evidence from a case-control study. *Am J Gastroenterol.* 2007;102:1251–58.
52. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Rovida S, Rametta R, Fatta E, et al. A randomized trial of iron depletion in patients with nonalcoholic fatty liver disease and hyperferritinemia. *World J Gastroenterol.* 2014;20:3002–10.
53. Lainé F, Ruivard M, Loustaud-Ratti V, Bonnet F, Calès P, Bardou-Jacquet E, et al. Metabolic and hepatic effects of bloodletting in dysmetabolic iron overload syndrome: A randomized controlled study in 274 patients. *Hepatology.* 2017;65:465–74.
54. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13:643–54, e641–e49; quiz e639–e40.
55. Hafliðadóttir S, Jonasson JG, Norland H, Einarsdóttir SO, Kleiner DE, Lund SH, et al. Long-term follow-up and liver-related death rate in patients with non-alcoholic and alcoholic related fatty liver disease. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:166.
56. Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2004;40:578–584.
57. Browning JD, Kumar KS, Saboorian MH, Thiele DL. Ethnic differences in the prevalence of cryptogenic cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 2004;99:292–8.
58. Dyson J, Jaques B, Chattopadhyay D, Lochan R, Graham J, Das D, et al. Hepatocellular cancer: the impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team. *J Hepatol.* 2014;60:110–117.
59. Wong RJ, Cheung R, Ahmed A. Nonalcoholic steatohepatitis is the most rapidly growing indication for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma in the U.S. *Hepatology.* 2014;59: 2188–95.