

Rolul testelor non-invazive în diagnosticul pacienților cu ficat gras non-alcoolic

The diagnostic value of non-invasive scoring systems in patients with non-alcoholic fatty liver disease

Asist. Univ. Dr. ANCA MARIA AMZOLINI^{1,2}, Prof. Dr. TUDOREL CIUREA^{1,3}, Șef Lucr. Dr. DANIELA NEAGOE^{1,3}, Asist. Univ. Dr. GABRIEL IANOȘI^{1,4}, Dr. VIOLETA COMĂNESCU³, Asist. Univ. Dr. DRAGOȘ ALEXANDRU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova

²Spitalul Clinic Municipal „Filantropia”, Craiova

³Spitalul Clinic Județean de Urgență, Craiova

⁴Spitalul Militar de Urgență „Ștefan Odobleja”, Craiova

REZUMAT

Steatoza hepatică non-alcoolică este expresia încărcării grase hepatice dezvoltate în lipsa consumului crescut de alcool. La o parte din pacienți, sub acțiunea unor factori incomplet cunoscuți, steatoza simplă evoluează spre steatohepatită, fibroză și chiar ciroză hepatică, necesitând efectuarea biopsiei hepatice pentru confirmarea diagnosticului.

Obiectiv. Stabilirea rolului testelor de diagnostic non-invaziv în evaluarea stadiului și gradului bolii la pacienții cu ficat gras non-alcoolic.

Material și metodă. 50 de pacienți cu steatoză hepatică non-alcoolică au fost evaluați din punct de vedere clinic, biologic, histologic și au fost calculate mai multe scoruri de predicție a steatozei, steatohepatitei și fibrozei hepatice.

Rezultate. La pacienții cu steatoză hepatică non-alcoolică din lotul de studiu, prevalența leziunilor de steatohepatită a fost de 36%, iar a celor de fibroză semnificativă (stadiul Kleiner $F \geq 2$) de 28%. Dintre testele de diagnostic non-invaziv, scorurile pentru steatoză s-au corelat semnificativ cu leziunile histopatologice ($p < 0,0001$), iar „NAFLD-fibrosis score” a permis excluderea fibrozei semnificative la 42% dintre pacienți ($p < 0,0001$).

Concluzii. Testele de diagnostic non-invaziv ajută, pe de o parte, la excluderea pacienților cu forme avansate de boală și, pe de altă parte, la selectarea unei categorii de pacienți cu indicație de biopsie hepatică pentru un diagnostic de certitudine.

Cuvinte cheie: ficat gras non-alcoolic, biopsie hepatică, diagnostic non-invaziv

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) represents the accumulation of fat in the liver cells, in the absence of alcohol consumption. Liver biopsy is recommended as the gold standard method for the diagnosis of progressive lesions such as steatohepatitis (NASH), fibrosis or cirrhosis.

Aim. To investigate the role of non-invasive scoring systems for staging and grading in NAFLD patients.

Adresă de corespondență:

Asist. Univ. Dr. Anca Maria Amzolini, Universitatea de Medicină și Farmacie, Str. Petru Rareș Nr. 2, Craiova
e-mail: amzolinianca@yahoo.com

Methods. The clinical, laboratory and histological features of 50 NAFLD patients were analyzed and several clinical scoring systems were calculated.

Results. Eighteen patients (36%) had NASH on liver biopsy and 14 patients (28%) had important fibrosis (Kleiner fibrosis stage ≥ 2). Diagnosis tests which predict steatosis were significantly correlated with histopathological lesions ($p < 0.0001$), and "NAFLD fibrosis score," allowed the exclusion of significant fibrosis in 42% of patients ($p < 0.0001$).

Conclusions. Non-invasive diagnosis tests allow the exclusion of the patients with advanced disease and allow to select the patients with indication for liver biopsy.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, liver biopsy, non-invasive diagnosis

INTRODUCERE

Ficatul gras non-alcoolic (FGNA) – Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) în literatura anglo-saxonă – cuprinde un spectru de leziuni hepatice (steatoză, steatohepatită – NASH, fibroză și ciroză) care apar în absența consumului de alcool sau consum minim (sub 20 g/zi pentru femei și 30 g/zi pentru bărbați) și în absența altor cauze evidente de boală hepatică (1). Numărul mare de studii care demonstrează asocierea ficatului gras non-alcoolic cu insulinorezistența, obezitatea, hipertensiunea arterială și dislipidemia, consideră NAFLD drept manifestarea hepatică a sindromului metabolic (2). În ultimele două decade ficatul gras non-alcoolic a devenit cea mai comună boală hepatică cronică în America de Nord și în Europa de Vest. În prezent se estimează că NAFLD afectează 20-40% din populația generală adultă, ajungând la 73-92% la cazurile cu obezitate (3) și la 50% la cazurile cu diabet zaharat (4).

În marea majoritate a cazurilor boala este descoperită întâmplător cu ocazia unor investigații de rutină, când se constată valori crescute ale transaminazelor, în urma efectuării ecografiei abdominale pentru o altă condiție patologică, sugestiv fiind aspectul de „ficat mare, alb, strălucitor” sau în urma evaluării pacienților cu diabet zaharat tip 2.

Biopsia hepatică este considerată „standardul de aur” în diagnosticul leziunilor din NAFLD (5). Deși este unanim recunoscut faptul că precizarea/diagnosticul subtipurilor bolii, aprecierea severității și progresiei bolii, cât și certificarea fibrozei hepatice necesită biopsie hepatică și examen histologic, există o serie de dezavantaje și probleme în practica clinică, legate de biopsia hepatică (6,7):

- variabilitate intra- și interobservațională, rată de eroare considerabilă, cost ridicat, metodă invazivă, aderența scăzută a pacientului, risc de complicații;

- absența unor seturi de criterii histologice minime pentru diagnosticul subtipurilor NAFLD;
- probleme legate de faptul că spectrul histologic hepatic din NAFLD este foarte asemănător cu cel din boala hepatică cronică indusă de consumul de alcool;
- nu există un consens în privința indicațiilor biopsiei hepatice în cazul NAFLD;
- absența unei terapii specifice, eficiente în NAFLD a pus sub semnul întrebării aportul și beneficiile reale ale biopsiei hepatice.

Datorită prognosticului diferit între tipurile histologice ale ficatului gras non-alcoolic și datorită necesității depistării precoce a steatohepatitei și stadiilor incipiente ale fibrozei hepatice, au fost dezvoltate mai multe metode de diagnostic non-invaziv care pot fi utilizate în managementul pacienților cu ficat gras non-alcoolic, în absența biopsiei hepatice. Aceste metode combină o serie de parametri clinici și biochimici în sisteme de scoruri sau utilizează tehnici radiologice, căutând să îndeplinească cerințele unui marker non-invaziv ideal: cost-eficiență, ușurință în măsurare, specificitate hepatică, reproductibilitate între pacienți și diferite grupuri populaționale, valoare predictivă (8). Până în prezent, nici o metodă non-invazivă considerată separat nu are suficientă acuratețe pentru a permite înlocuirea biopsiei hepatice în diagnosticul de certitudine al NAFLD, dar utilizându-le în combinație, se poate reduce numărul celor care efectuează biopsie pentru stabilirea progresiei bolii (8). Pornind de la aceste aspecte, obiectivul principal al studiului de față a fost analiza comparativă a testelor non-invazive cu rezultatele examenului histopatologic pentru stabilirea gradului și stadiului bolii și identificarea pacienților cu forme incipiente ale bolii folosind numai metode non-invazive, cu scopul de a evita efectuarea biopsiei hepatice la această categorie de pacienți.

MATERIAL ȘI METODĂ

Pacienții din acest studiu provin dintr-un număr de 216 pacienți, internați în Clinica de Chirurgie a Spitalului Militar de Urgență Ștefan Odobleja, Craiova, în perioada noiembrie 2008-octombrie 2011 cu diagnosticul de litiază veziculară, având indicație de intervenție chirurgicală. La examinarea ecografică transabdominală, la un număr de 153 de pacienți s-a evidențiat aspectul de steatoză hepatică. După semnarea consimțământului informat, în timpul intervenției chirurgicale s-a efectuat și biopsia hepatică pentru confirmarea steatozei. Un număr de 71 de pacienți s-au prezentat ulterior la Centrul de Cercetare în Gastroenterologie și Hepatologie Craiova și, după excluderea anamnezică a consumului de alcool, a altor boli hepatice cunoscute (hemocromatoza, boala Wilson, deficitul de α 1-antitripsina) și a hepatitelor cronice virale (după efectuarea markerilor virali pentru virusurile hepatice B și C) au rămas 50 de pacienți cu steatoză hepatică demonstrată histologic, aceștia constituind lotul de studiu.

Pentru examenul histopatologic, fragmentele de țesut hepatic au fost fixate în formol 10%, apoi incluse în parafină, secționare la microtom și prelucrate cu următoarele colorații: hematoxină-eozină, van Gieson, Gomori, tricrom Masson. Gradarea și stadializarea histologică a leziunilor am realizat-o în conformitate cu clasificarea lui Kleiner și Brunt (2005) (9) (Tabelul 1).

TABELUL 1. Gradarea leziunilor histologice în NAFLD (9)

Leziunea	Definiție	Scor
Steatoza	< 5%	0
	5-33%	1
	> 33-66%	2
	> 66%	3
Inflamația lobulară	Absentă	0
	2 focare/200 x câmp	1
	2-4 focare/200 x câmp	2
	> 4 focare/200 x câmp	3
Balonizarea hepatocitară	Absentă	0
	Câteva celule balonizate	1
	Mai multe celule/balonizare importantă	2
Stadiul fibrozei	Absentă	0
	Perisinusoidală sau periportală	1
	Ușoară, zona 3, perisinusoidală	1A
	Moderată, zona 3, perisinusoidală	
	Portală/periportală	1B
	Perisinusoidală și portală/periportală	1C
	Fibroza în punți	2
Ciroză	3	
		4

Parametrii clinici și explorările biologice urmărite la toți pacienții au fost: vârsta, sexul,

indicele de masă corporală (IMC), circumferința abdominală (CA), hemograma, glicemia, insulinemia, prezența diabetului zaharat tip 2 (DZ) și a sindromului metabolic (SM), profilul lipidic (colesterolul total, HDL-colesterolul, trigliceridele serice), transaminazele (GOT,GPT), gamma glutamiltranspeptidaza (γ -GT), electroforeza proteinelor serice. Sindromul metabolic a fost definit conform criteriilor elaborate de IDF (International Diabetes Federation), NHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute), AHA (American Heart Association), World Heart Federation, International Atherosclerosis Society și International Association for the Study of Obesity, publicate în 2009 (10); se consideră necesară prezența a oricăror trei din cele cinci trăsături clinice pentru definiția sindromului metabolic: circumferința abdominală (CA) peste 94 cm la bărbați și peste 80 cm la femei, trigliceridele serice \geq 150 mg/dl (1,7 mmol/L) sau tratament hipolipemiant, HDL colesterolul < 40 mg/dl (1 mmol/L) la bărbați, < 50 mg/dl (1,3 mmol/L) la femei, tensiunea arterială \geq 130/85 mmHg sau tratament antihipertensiv, glicemia à jeun \geq 100 mg% sau tratament antidiabetic pentru hiperglicemie. Pe baza acestor date clinice și de laborator am calculat următoarele scoruri: pentru steatoză „Fatty liver index“ (FLI) (11) și „NAFLD liver fat score“ (NAFLD-LFS) (12), pentru steatohepatită scorurile publicate de Pierre Gholam în 2007 (13) și de Fernanda Pulzi în 2011 (14), iar pentru fibroză scorurile BARD (15), FIB-4 (16) și „NAFLD fibrosis score“ (17). FLI a fost calculat după formula următoare:

$$FLI = e^L / (1 + e^L) * 100$$

unde $L = 0,953 * \log_e(\text{trigliceride}) + 0,139 * IMC + 0,718 * \log_e(\gamma GT) + 0,053 * (CA) - 15,745$ (11). O valoare sub 30 exclude steatoza hepatică, iar valorile \geq 60 confirmă prezența hepatosteatozei.

Pentru NAFLD-LFS = $-2,889 + 1,179 * SM$ (da = 1 / nu = 0) + $0,454 * DZ$ tip 2 (da = 2/nu = 0) + $0,145 * \text{insulinemia} + 0,038 * GOT - 0,936 * (GOT/GPT)$ (12), o valoare mai mare de -0,640 indică prezența steatozei.

În modelul statistic al lui Gholam (2,627* lnGOT + 2,13 pentru cazurile cu diabet) (13), o valoare de peste 8,22 este predictivă pentru NASH. Celălalt scor pentru steatohepatită (14) se calculează acordând câte 1 punct pentru fiecare din următoarele modificări: GPT \geq 30U/L, γ -GT \geq 30U/L, GOT/GPT \leq 1 și aspect ecografic de steatoză hepatică. Un scor \geq 4 este în favoarea diagnosticului de NASH.

Scorul BARD a fost calculat ca suma a trei variabile: IMC > 28 kg/m² = 1 punct, GOT/GPT > 0,8 = 2 puncte, prezența diabetului = 1 punct (15). O valoare \leq 2 poate exclude fibroza semnificativă.

Formula de calcul pentru FIB-4 utilizată în studiu a fost: $FIB-4 = \text{vârsta} * GOT(\text{UI/l}) / \text{trombocitele} (x10^9/l) * VGPT(\text{UI/l}) (16)$, având ca valori prag un scor $< 1,3$ pentru excluderea fibrozei semnificative și un scor $\geq 3,25$ pentru prezența acesteia. Pentru NAFLD fibrosis score = $-1,675 + 0,037 * \text{vârsta} + 0,094 * IMC(\text{kg/m}^2) + 1,13 * \text{prezența diabetului} (da = 1/nu = 0) + 0,99 * (GOT/GPT) - 0,013 * \text{trombocite} (x10^9/l) - 0,66 * \text{albumina} (g/dl) (17)$, există două valori prag (sub $-1,455$ și peste $0,676$) pentru excluderea, respectiv predicția fibrozei semnificative.

Parametrii mășurați pentru subiecții incluși în acest studiu au fost stocați în fișiere Excel, iar pentru prelucrarea datelor s-a folosit programul Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA), împreună cu suita XLSTAT pentru MS Excel (Addinsoft SARL, Paris, Franța). Toate variabilele continue au fost raportate ca medie \pm deviația standard (SD). Pentru compararea scorurilor non-invazive cu rezultatele examenului histologic s-au folosit testul Chi pătrat și testul tau al lui Kendall. Valoarea $p < 0,05$ a fost considerată semnificativă statistic.

Participarea pacienților la studiu s-a făcut în urma semnării consimțământului informat, după explicarea detaliilor legate de prelevarea de materiale biologice, de realizarea metodelor invazive și non-invazive. De asemenea, a fost respectată declarația de la Helsinki privind principiile eticii cercetării medicale care implică subiecți umani.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Pe parcursul desfășurării cercetării au fost incluși 50 de pacienți cu leziuni de steatoză hepatică având confirmare histologică și care au fost investigați ulterior în cadrul Centrului de Cercetare în Gastroenterologie și Hepatologie Craiova. Din cei 50 de pacienți, 18 au fost bărbați și 32 femei cu vârsta medie de 56,4 ani cu limite

cuprinse între 30 și 76 de ani. Cei mai mulți pacienți sunt în decadele VI și VII de vârstă. După calcularea indicelui de masă corporală, 28% dintre pacienți au fost supraponderali, 62% au prezentat un anumit grad de obezitate și numai 5 pacienți (10%) au avut greutatea normală. 52% dintre pacienți au avut diabet zaharat și 90% au întrunit criteriile de diagnostic pentru sindromul metabolic. În privința rezultatelor explorărilor biologice, considerând limita superioară a colesterolului seric 200 mg/dl, 56% dintre pacienți au depășit această valoare. Un procent mai mare de pacienți (72%) au prezentat hipertrigliceridemie. Și valorile transaminazelor au fost crescute, fără a depăși în medie de 2x limita superioară a normalului. Caracteristicile clinice și biologice ale pacienților incluși în studiu sunt rezumate în Tabelul 2.

Din punct de vedere histologic, cazurile studiate au prezentat steatoză în proporție de 96%. 2 cazuri au prezentat steatoză într-un procent mai mic de 5% și au fost clasificate ca S0. Balonizarea hepatocitelor, o caracteristică ce exprimă lezarea celulară, a fost găsită la 22 de cazuri (44%). Inflamația lobulară este parte integrantă a diagnosticului de steatohepatită. Din cei 50 de pacienți, 18 (36%) au prezentat leziuni de steatohepatită, inflamația lobulară fiind ușoară în 72% dintre cazuri și moderată în 28% dintre cazuri. Nu a existat nici un caz cu inflamație severă. În fragmentele hepatice studiate, fibroza a reprezentat un proces heterogen. A fost identificată fibroza zonei 3, perivenulară, perisinusoidală/pericelulară cu distribuție focală sau extinsă în 16 cazuri, acestea fiind încadrate în stadiul 1 în conformitate cu clasificarea Kleiner și Brunt și reprezentând categoria predominantă. În 9 cazuri, pe lângă modificările anterioare, s-a observat și prezența fibrozei periportale focale sau extinse, aceste cazuri fiind încadrate în stadiul F2. Prezența fibrozei în punți a fost identificată în 4 cazuri (F3), iar ciroza într-un singur caz (F4).

TABELUL 2. Caracteristicile clinice și biologice ale pacienților incluși în studiu

Sex (bărbați/femei)	18/32	Obezitate grad II (număr pacienți)	5/50
Vârsta (ani)	56,4 \pm 11,59	Obezitate grad III (număr pacienți)	1/50
Diabet zaharat (absent/prezent)	24/26	Colesterol total (mg/dl)	203,66 \pm 41,21
Sindrom metabolic (absent/prezent)	5/45	HDL-colesterol (mg/dl)	46,2 \pm 15
Circumferința abdominală (cm)	103,78 \pm 10,9	Trigliceride (mg/dl)	183 \pm 84
Circumferința șold (cm)	109,98 \pm 10,6	Trigliceride/HDL-colesterol	4,54 \pm 3,08
Circumferința abdominală/ circumferința sold	0,94 \pm 0,086	GOT (UI/L)	44,3 \pm 22,2
IMC (kg/m ²)	30,46 \pm 4,2	GPT (UI/L)	56,22 \pm 35
Greutate normală (număr pacienți)	5/50	GOT/GPT	0,88 \pm 0,3
Supraponderali (număr pacienți)	14/50	Albumină	4,15 \pm 0,33
Obezitate grad I (număr pacienți)	25/50	γ -GT (UI/L)	68,12 \pm 83,96

Pe baza datelor clinice și biochimice am calculat două scoruri de predicție a încărcării grase hepatice: „Fatty liver index“ (FLI) și „NAFLD liver fat score“ (NAFLD-LFS). La 92% dintre pacienții cu grad de steatoză $\geq S1$ (n = 48) rezultatele celor două scoruri au fost peste valorile considerate predictive pentru steatoza hepatică, corelația cu examenul anatomopatologic fiind înalt semnificativă statistic (p Chi pătrat < 0,0001, p Fisher = 0,0049) (Tabelul 3 și Fig. 1 și 2).

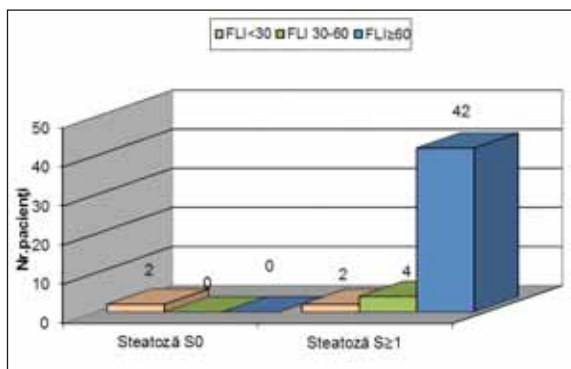


FIGURA 1. Sensibilitatea FLI în aprecierea prezenței steatozei

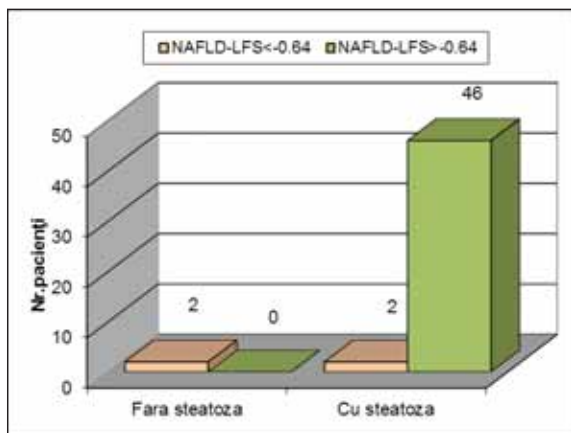


FIGURA 2. Sensibilitatea NAFLD – LFS în aprecierea prezenței steatozei

La pacienții din lot am calculat două scoruri citate în literatură ca predictive pentru NASH: scorul Gholam cu valoare de referință 8,22 și scorul pentru hepatită conceput în 2011, a cărui valoare ≤ 2 ajută la excluderea pacienților cu NASH. La toți pacienții din lot, valorile scorului Gholam au fost peste 8,22, astfel încât nu au putut fi comparate cu rezultatele examenului

histologic. În ceea ce privește scorul pentru hepatită, acesta a fost corelat semnificativ cu leziunile histologice de NASH (p Chi pătrat = 0,0027).

Dintre scorurile calculate pentru fibroza hepatică, scorul BARD nu se corelează cu gradul fibrozei (p Chi pătrat = 0,791). Scorul FIB-4 este corelat semnificativ cu fibroza hepatică (p Chi pătrat = 0,004 și p Fisher = 0,0024). O corelație înalt semnificativă statistic am găsit între gradul fibrozei și scorul „NAFLD fibrosis score“ (NFS) (p Chi pătrat și p Fisher < 0,0001) (Fig. 3).

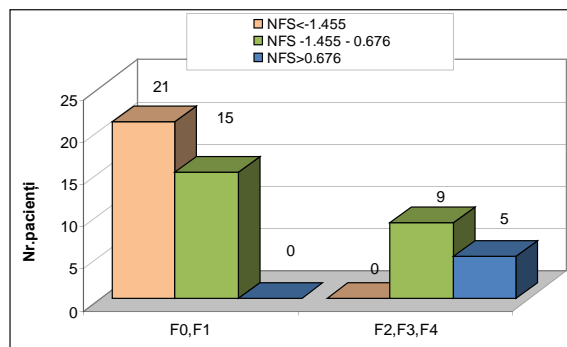


FIGURA 3. Sensibilitatea „NAFLD fibrosis score“ de a diferenția fibroza avansată și absența fibrozei – corelație cu examenul anatomopatologic

Utilizând scorurile non-invasive pentru a exclude leziunile de NASH și fibroza semnificativă, biopsia hepatică poate fi evitată la 16% dintre pacienți folosind scorul pentru steatohepatită, la 48% dintre pacienți folosind scorul FIB-4 și la 42% dintre ei cu ajutorul scorului NFS, cu 0 rezultate fals negative în ultimul caz (Tabelul 4).

TABELUL 4. Proporția pacienților care pot evita biopsia hepatică utilizând teste non-invasive pentru excluderea NASH și a fibrozei semnificative

Scor	Cut-off	Nr. pacienți	Rezultate fals negative
Scor hepatită BARD	≤ 2	8/50 (16%)	0 (0%)
	< 2	12/50 (24%)	3 (25%)
FIB-4	< 1.3	24/50 (48%)	1 (4%)
NFS	< -1.455	22/50 (42%)	0 (0%)

Pentru confirmarea modificărilor de steatoză, NASH și fibroză la pacienții cu ficat gras non-

TABELUL 3. Repartiția scorurilor non-invasive în funcție de prezența și gradul steatozei

	Steatoza S0 n = 2	Steatoza S1 n = 19	Steatoza S2 n = 17	Steatoza S3 n = 12
FLI < 30	2 (4%)	0 (0%)	2 (11,76%)	0 (0%)
FLI (30-60)	0 (0%)	3 (15,78)	0 (0%)	1 (8,33%)
FLI ≥ 60	0 (0%)	16 (84,21%)	15 (88,23%)	11 (91,66%)
NAFLD-LFS < -0,64	2 (4%)	1 (5,26%)	1 (5,88%)	0 (0%)
NAFLD-LFS $\geq -0,64$	0 (0%)	18 (94,73%)	16 (94,11%)	12 (100%)

alcoolic în absența biopsiei hepatice, rezultatele studiului sunt diferențiate în funcție de tipul de leziune. Astfel, dacă pentru steatoză se pot utiliza scorurile FLI și NAFLD-LFS care confirmă prezența steatozei la 84%, respectiv la 92% dintre cazuri, cu 0 rezultate fals pozitive, pentru steatohepatită, la o valoare prag a scorului de 4 s-au înregistrat 50% rezultate fals pozitive. Calculând scorurile de fibroză pentru stabilirea cazurilor cu fibroză semnificativă, între 6% și 10% dintre pacienți pot evita biopsia hepatică. Utilizând scorul FIB-4, 46% dintre pacienți au avut rezultate neconcludente, iar pentru „NAFLD fibrosis score” s-au obținut 48% rezultate între cele două valori prag ale scorului.

CONCLUZII

Efectuarea biopsiei hepatice la pacienții incluși în studiu a permis stabilirea cu mai mare acuratețe a rolului testelor non-invasive în diag-

nosticul leziunilor de steatoză, steatohepatită și fibroză hepatică.

Deși determinările serologice pentru calcularea acestor scoruri sunt accesibile pe scară largă, testele non-invasive sunt mai utile pentru excluderea leziunilor evolutive decât pentru confirmarea stadiilor avansate ale bolii.

Dintre testele non-invasive, „NAFLD fibrosis score” a dovedit o corelație înalt semnificativă statistic ($p < 0,0001$) cu leziunile histologice de fibroză.

Testele pentru steatoză „Fatty liver index” și „NAFLD liver fat score” permit identificarea încărcării grase hepatice, utilizând date clinice și de laborator ușor disponibile.

Pacienții cu rezultate neconcludente la testele non-invasive, în prezența factorilor de risc pentru NASH și fibroză, necesită efectuarea biopsiei hepatice pentru un diagnostic de certitudine.

BIBLIOGRAFIE

- Alba L.M., Lindor K. – Review article: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003; 17:977-986.
- de Alwis NMW, Day C.P. – Non-alcoholic fatty liver disease: The mist gradually clears. *J Hepatol* 2008;48:S104-112
- Erickson S. – Nonalcoholic fatty liver disease. *J. Lipid Res.* 2009, 50:S412-416
- Angulo P, M.D. – Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 2002; Vol. 346, No. 16: 1221-31
- Loria P., Adinolfi L.E., Bellentani S., et al. – Practice guidelines for the diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: a Decalogue from the Italian Association for the Study of the Liver (AISF) Expert Committee. *Dig Liver Dis.* 2010; 42:272-28
- Tannapfel A., Denk H., Dienes H.P., et al. – Histopathological diagnosis of non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease. *Virchows Arch* 2011; 458:511-523
- Wieckowska M.D., Feldstein A.E. – Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease: invasive versus noninvasive. *Semin Liver Dis* 2008; 28:386-395
- Musso G., Gambino R., Cassader M. et al. – Meta-analysis: Natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Annals of Medicine*, 2011; 43:617-649
- Kleiner D.E., Brunt E.M., Van Natta M., et al. – Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; vol 41, No 6: 1313-1321
- Alberti et al. – Harmonizing the Metabolic Syndrome A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120:1640-1645
- Bedogni G., Bellentani S., Miglioli L. et al. – The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterology* 2006, 6:33
- Kotronen A., Peltonen M., Hakkarainen A. et al. – Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors. *Gastroenterology* 2009; 137:865-872
- Gholam P.M., Flancbaum L., Machan J.T., et al. – Nonalcoholic fatty liver disease in severely obese subjects. *Am J Gastroenterol* 2007; 102:399-408
- Pulzi F.B., Cisternas R., Melo M.R., et al. – New clinical score to diagnose nonalcoholic steatohepatitis in obese patients. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2011, 3:3
- Harrison S.A., Oliver D., Arnold H.L., et al. – Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut* 2008; 57:1441-7
- Dowman J.K., Tomlinson J.W., Newsome P.N. – Systematic Review: The Diagnosis and Staging of Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Non-alcoholic Steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011; 33(5):525-540
- Angulo P. – Nonalcoholic fatty liver disease in Mayo Clinic. *Gastroenterology and Hepatology board review*, 2008; 407-418