

Normas de Orientação Clínica da EASL, EASD e EASO sobre a abordagem da doença hepática não alcoólica ☆

Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL)*, Associação Europeia para o Estudo da Diabetes (EASD) e Associação Europeia para o Estudo da Obesidade (EASO)

Introdução

As Normas de Orientação Clínica propõem recomendações para o diagnóstico, tratamento e seguimento dos doentes com doença hepática não alcoólica (DHNA), e são o produto de um esforço conjunto da Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL), Associação Europeia para o Estudo da Diabetes (EASD) e Associação Europeia para o Estudo da Obesidade (EASO). Estas atualizam uma declaração de posicionamento com base na Conferência Especial da EASL de 2009 [1].

Os dados foram obtidos por uma pesquisa exaustiva na PubMed até abril de 2015. As declarações finais são classificadas de acordo com o nível de evidência e a força da recomendação, que

são ajustáveis aos regulamentos locais e/ou às capacidades da equipa (Tabela 1) [2]. Em particular, o rastreio para a DHNA na população de risco deve ser feito no contexto dos recursos disponíveis, tendo em conta os encargos para os sistemas nacionais de saúde e à existência limitada tratamentos eficazes atualmente. O documento destina-se tanto para utilização prática como para promover a investigação e o conhecimento da DHNA nos adultos, com referência específica à DHNA pediátrica sempre que necessário. O objetivo final é melhorar o atendimento ao doente e a sensibilização da importância da DHNA e auxiliar as partes interessadas no processo de decisão ao fornecer dados baseados na evidência, que também têm em consideração os encargos da abordagem clínica para o sistema de saúde.

Definição

A DHNA é caracterizada pela acumulação excessiva de tecido adiposo hepático, está associada a insulinoresistência (IR) e é definida pela presença de esteatose em >5% dos hepatócitos de acordo com a análise histológica ou por uma fração de gordura da densidade de prótons (fornecendo uma estimativa grosseira da fração de volume de material lipídico no fígado) >5,6% avaliada por espectroscopia de ressonância magnética de prótons (1h-MRS) ou por ressonância magnética (RM) quantitativa de água e gordura. A DHNA inclui duas patologias histologicamente distintas com diferentes prognósticos: fígado gordo não alcoólico (FGNA) e esteato-hepatite não alcoólica (EHNA); a última abrange um grande espectro de gravidade da doença incluindo fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) (Tabela 2).

O diagnóstico da DHNA requer a exclusão das causas secundárias e de um consumo diário de álcool ≥ 30 g para o sexo masculino e ≥ 20 g para o sexo feminino [1]. O consumo de álcool/alcoólico acima destes limites indica doença hepática alcoólica. A relação entre o álcool e a lesão hepática depende de vários cofatores (tipo de bebida alcoólica, padrões de consumo, duração da exposição, suscetibilidade individual/genética), tornando os limiares quantitativos simples parcialmente arbitrários. Especificamente, os doentes que ingerem quantidades moderadas de álcool podem ainda ter predisposição para a DHNA se tiverem fatores de risco metabólicos. É de notar que o impacto global dos fatores de risco metabólicos na ocorrência de esteatose parece ser superior ao do álcool nestes doentes [3]. O diagnóstico definitivo da EHNA requer uma biópsia hepática.

Recebido a 4 de novembro de 2015, Aceite a 4 de novembro de 2015

☆ Colaboradores: Coordenador da EASL: Giulio Marchesini; Membros do painel: Christopher P. Day, Jean-François Dufour, Ali Canbay, Valerio Nobili, Vlad Ratziu, Herbert Tilg; Coordenador da EASD: Michael Roden; Membros do painel: Amalia Gastaldelli, Hannele Yki-Järvinen, Fritz Schick; Coordenador da EASO: Roberto Vettor; Membros do painel: Gema Frühbeck, Lisbeth Mathus-Vliegen.

* Correspondência: EASL Office, 7 Rue Daubin, CH 1203 Geneva, Switzerland. Tel.: +41 22 807 0360; fax: +41 22 328 0724.

Endereço eletrónico: easloffice@easloffice.eu.

Estas normas foram desenvolvidas pela EASL, EASD e EASO, e estão publicadas simultaneamente no *Journal of Hepatology*, *Diabetologia* e *Obesity Facts*.

Síglas e acrónimos: AGPI: ácidos gordos polinsaturados; ALT: alanina transaminase; AUDC: ácido ursodesoxicólico; CAP: parâmetro de atenuação controlada; CCR: recetor de quimiocina; CHC: carcinoma hepatocelular; CK-18: fragmentos de citoqueratina-18; DCV: doença cardiovascular; DHNA: doença hepática não alcoólica; DMT2: diabetes mellitus tipo 2; DRC: doença renal crónica; EASD: Associação Europeia para o Estudo da Diabetes; EASL: Associação Europeia para o Estudo do Fígado; EASO: Associação Europeia para o Estudo da Obesidade; ECA: ensaios clínicos aleatorizados; ECO: ecografia; EHNA: esteato-hepatite não alcoólica; ELF: *Enhanced Liver Fibrosis*; F: estadio de fibrose; FGNA: fígado gordo não alcoólico; FIB-4: pontuação FIB-4; FLI: índice do fígado gordo; HbA1c: hemoglobina glicosilada; HDL: lipoproteína de alta densidade; HOMA-IR: avaliação do modelo de homeostasia da resistência à insulina; IFG: glicemia em jejum alterada; IMC: índice de massa corporal; IR: insulinoresistência; LDL: lipoproteína de baixa densidade; MRS: espectroscopia de ressonância magnética; NAS: Pontuação da Atividade da DHNA; NFS: pontuação da fibrose na DHNA; PNHS: pontuação histológica da DHNA pediátrica; PNPLA3: fosfolipase contendo domínio semelhante a patatina 3; PPAR: recetor ativado por proliferador de peroxissoma; PTGO: prova de tolerância à glicose oral; RM: ressonância magnética; SAF: esteatose, atividade e fibrose; SM: síndrome metabólica; TC: tomografia computadorizada; TM6SF2: transmembranar 6 superfamília 2; VPn: valor preditivo negativo; VPP: valor preditivo positivo.



Disclaimer:

The Portuguese version of this guide is a translation of the original English version and is provided for information purposes only. In case of any discrepancy, the English original will prevail. EASL makes no warranty of any kind with respect to any translated guide.

Tabela 1. Classificação de evidência utilizada nas Normas de Orientação Clínica da EASL, EASD e EASO da DHNA (adaptada do sistema GRADE [8]).

Classificação de evidência	Notas	Símbolo
Alta qualidade	É muito improvável que pesquisa adicional mude a nossa confiança na estimativa do efeito	A
Moderada qualidade	É provável que pesquisa adicional tenha um impacto importante sobre a nossa confiança na estimativa do efeito e é suscetível de alterar a estimativa do efeito	B
Baixa ou muito baixa qualidade	É muito provável que pesquisa adicional tenha um impacto importante sobre a nossa confiança na estimativa do efeito e é suscetível de alterar a estimativa do efeito. Qualquer estimativa do efeito é incerta	C
Classificação de recomendações	Notas	Símbolo
Forte recomendação indicada	Os fatores que influenciam a força da recomendação incluem a qualidade da evidência, os custos e os presumíveis resultados com importância para o doente	1
Recomendação mais fraca	Variabilidade nas preferências e valores, ou maior incerteza: é mais provável que uma recomendação fraca esteja indicada. Recomendação é feita com menor certeza; maior consumo de recursos ou custos	2

Tabela 2. O espectro da DHNA e das doenças concomitantes.

Doença	Subclassificação	Doenças concomitantes mais comuns
DHNA*	FGNA • Esteatose pura • Esteatose e inflamação lobular ligeira	° DHA – Doença hepática alcoólica ° Doença hepática induzida por fármacos ° Fígado gordo associado ao vírus da hepatite C (genótipo 3) ° Outras
	EHNA • EHNA precoce: sem fibrose ou fibrose ligeira (F0-F1) • EHNA fibrótica: fibrose significativa (≥F2) ou avançada (≥F3, em ponte) • EHNA – Cirrose (F4)	• Hemocromatose • Hepatite autoimune • Doença celíaca • Doença de Wilson • A/hipobetalipoproteinemia, lipoatrofia • Hipopituitarismo, hipotireoidismo • Inanição, nutrição parenteral • Alterações do metabolismo congénitas (doença de Wolman [deficiência de lipase ácida lisossomal])
	Carcinoma hepatocelular^	

*Também denominada DHNA primária e associada a fatores de risco metabólicos/componentes da síndrome metabólica:

1. Circunferência abdominal $\geq 94/\geq 80$ cm para homens/mulheres caucasianos.
2. Pressão arterial $\geq 130/85$ mmHg ou sob tratamento para a hipertensão.
3. Glicemia em jejum ≥ 100 mg/dl (5,6 mmol/L) ou sob tratamento para a DMT2.
4. Triglicéridos >150 mg/dl ($>1,7$ mmol/L).
5. Colesterol HDL $<40/50$ mg/dl para homens/mulheres ($<1,0/<1,3$ mmol/L).

° Também denominada DHNA secundária. É de notar que as DHNA primária e secundária podem coexistir em doentes individuais. A DHNA e a DHA podem também coexistir nos indivíduos com fatores de risco metabólicos e hábitos alcoólicos acima dos limites de segurança.

^Pode ocorrer na ausência de cirrose e evidência histológica de EHNA, mas com fatores de risco metabólicos sugestivos de EHNA “burnout”.

Recomendações

- Os doentes com IR e/ou fatores de risco metabólicos (isto é, obesidade ou síndrome metabólica [SM]) devem ser submetidos a procedimentos para o diagnóstico da DHNA, demonstrado acumulação excessiva de tecido adiposo hepático (**A1**)
- Os indivíduos com esteatose devem fazer rastreio para as causas secundárias da DHNA, incluindo uma avaliação criteriosa do consumo de álcool. A interação entre quantidades moderadas de álcool e os fatores metabólicos no fígado gordo deve ser sempre considerada (**A1**)
- Outras doenças hepáticas crônicas que podem coexistir com a DHNA devem ser identificadas, uma vez que podem originar lesão hepática mais grave (**B1**)

Prevalência e incidência

A DHNA é a patologia hepática mais comum nos países ocidentais afetando 17–46% dos adultos, com diferenças conforme o método diagnóstico, idade, sexo e etnia [4]. Esta acompanha a prevalência da SM e as suas componentes, aumentando o risco de doença mais avançada tanto nos adultos como nas crianças. A DHNA está também presente em 7% dos indivíduos com peso normal [5], mais frequentemente do sexo feminino, com uma idade mais jovem e enzimas hepáticas normais. Contudo, a sua doença hepática pode ser progressiva [6].

A incidência da DHNA foi raramente medida. Esta foi de 20–86/1000 pessoas-anos com base no aumento das enzimas hepáticas e/ou na ecografia (ECO), e de 34/1000 por ano com base na 1h-MRS [7].

A necessidade de fazer rastreio para a DHNA na comunidade foi questionada dado os elevados custos diretos e indiretos dos exames, o baixo valor preditivo dos métodos não invasivos, os riscos da biópsia hepática e a ausência de tratamentos eficazes [8]. No entanto, a forma progressiva da DHNA (isto é, EHNA), especialmente quando associada a fibrose avançada, deve ser identificada nos doentes de risco (com idade >50 anos, diabetes mellitus tipo 2 [DMT2] ou SM) pelas suas implicações prognósticas. Os estudos de custo-utilidade validados sobre programas alargados de rastreio são há muito aguardados. Além disso, embora ocorra agregação familiar, o rastreio familiar não é geralmente aconselhado, à exceção dos casos com doenças hereditárias definidas (p. ex.: deficiência de lipase ácida lisossomal).

Recomendações

- Todos os indivíduos com esteatose devem fazer rastreio para as características da SM, independentemente dos níveis das enzimas hepáticas. Todos os indivíduos com enzimas hepáticas persistentemente anormais devem fazer rastreio da DHNA porque esta patologia é a principal causa do aumento inexplicado das enzimas hepáticas (**A1**)
- Nos indivíduos com obesidade ou SM, o rastreio da DHNA pelos níveis das enzimas hepáticas e/ou da ecografia deve fazer parte da rotina. Nos indivíduos de alto risco (com idade >50 anos, DMT2, SM), a deteção dos casos de doença avançada (p. ex.: EHNA com fibrose) é aconselhada (**A2**)

Normas de Orientação Clínica

Patogênese: Estilo de vida e fatores genéticos

Uma dieta hipercalórica, excesso de gorduras (saturadas), hidratos de carbono refinados, bebidas açucaradas, ingestão elevada de frutose e uma dieta ocidental [9] foram associados a excesso de peso, obesidade e, mais recentemente, a DHNA. O consumo elevado de frutose pode aumentar o risco de EHNA e fibrose avançada, embora a associação possa ser suscetível de confundimento pela ingestão excessiva de calorias ou por estilos de vida pouco saudáveis e comportamento sedentário [10], que são mais comuns na DHNA [11].

Recomendações

- Os estilos de vida pouco saudáveis têm influência no desenvolvimento e progressão da DHNA. A avaliação dos hábitos alimentares e da atividade física faz parte do rastreio abrangente da DHNA (A1)

Vários modificadores genéticos da DHNA foram identificados [12], mas apenas uma minoria foi adequadamente validada (Tabela Suplementar 1). A associação genética mais bem-caracterizada é com a PNPLA3, que foi inicialmente identificada a partir de estudos de associação pangenómica e confirmada em várias coortes e etnias como modificador de gravidade da DHNA em todos os graus histológicos [13,14]. Recentemente, o gene TM6SF2 foi descrito como outro modificador da doença [15,16] e pode ter utilidade clínica ao auxiliar na estratificação de risco para a morbilidade hepática vs. cardiovascular.

A variante rs738409 da PNPLA3 também confere suscetibilidade e afeta o padrão histológico da DHNA e da fibrose nas crianças e adolescentes obesos [17]. Uma classificação de risco da EHNA com base em quatro polimorfismos foi validada nas crianças obesas com aumento das enzimas hepáticas [18].

Recomendações

- Os portadores das variantes I148M da PNPLA3 e E167K da TM6SF2 têm maior conteúdo lipídico hepático e aumento do risco de EHNA. Devido a estas variantes, a DHNA não está sistematicamente associada a insulinoresistência. A genotipagem pode ser considerada em doentes selecionados e estudos clínicos, mas não é habitualmente recomendada (B2)

Biópsia hepática

A biópsia hepática é essencial para o diagnóstico da EHNA, e é o único procedimento que diferencia adequadamente o FGNA da EHNA, apesar das limitações devidas à variabilidade da amostragem [19].

O FGNA engloba: a) esteatose isolada, b) esteatose com inflamação lobular ou portal mas sem balonização, ou c) esteatose com balonização mas sem inflamação [20]. O diagnóstico da EHNA necessita da presença associada de esteatose, balonização e inflamação lobular [20-22]. Podem ser observadas outras características histológicas na EHNA, mas não são necessárias para o diagnóstico: inflamação portal, infiltrados polimorfonucleares, corpos de Mallory-Denk, corpos apoptóticos, núcleos claros vacuolizados, esteatose microvacuolar e megamitocôndrias. A fibrose perissinusoidal

também é frequente, mas não faz parte dos critérios de diagnóstico; o termo EHNA “borderline” é confuso, desnecessário e não deve ser utilizado. O algoritmo FLIP desenhado prospetivamente aumenta a concordância entre observadores e define de forma precisa a classificação de balonização [22]. A EHNA “burnout” descreve a regressão na doença avançada (esteatose, inflamação ou balonização) nos doentes expostos a fatores de risco metabólicos.

O sistema de Pontuação da Atividade da DHNA (NAS) não deve ser utilizado para o diagnóstico da EHNA, mas sim para a avaliação da gravidade da doença, se o diagnóstico foi estabelecido pela avaliação histológica global. Embora a NAS esteja correlacionada com os níveis de aminotransferases e a avaliação do modelo de homeostasia da resistência à insulina (HOMA-IR) [23], estes têm um baixo valor prognóstico [24]. A pontuação da esteatose, atividade e fibrose (SAF) [22] é uma alternativa com boa reprodutibilidade e permite uma descrição mais precisa e abrangente. O estadiamento da fibrose baseia-se na classificação de Kleiner [21] (utilizada num padrão simplificado na SAF) [22].

Nas crianças, a EHNA apresenta muitas das características observadas nos adultos, mesmo que a distribuição das lesões possa ser diferente. A inflamação portal é uma característica frequente nas crianças, mas também pode ser observada nos adultos com doença mais grave [25]. A balonização hepatocelular e os corpos de Mallory-Denk são apenas observados esporadicamente na EHNA pediátrica, e a inflamação crónica de base portal é predominante [21]. Com base no padrão histológico distinto, uma pontuação histológica específica (Pontuação Histológica da DHNA Pediátrica – PNHS) foi validada como a melhor classificação para crianças com/sem EHNA [26].

Avaliação não invasiva

Os marcadores não invasivos deverão: i) nos cuidados de saúde primários, identificar o risco de DHNA entre os indivíduos com risco metabólico aumentado; II) nos cuidados de saúde secundários e terciários, identificar os indivíduos com pior prognóstico (p. ex.: EHNA grave); III) avaliar a progressão da doença; IV) prever a resposta a intervenções terapêuticas. Atingir estes objetivos pode reduzir o número de biópsias hepáticas.

Esteatose

Fundamentação. A esteatose deve ser documentada sempre que existe suspeita de DHNA como doença primária ou patologia coexistente. A esteatose também prevê diabetes mellitus, eventos cardiovasculares e hipertensão arterial futuros. Na prática clínica, a quantificação do conteúdo lipídico não é de interesse – exceto como desfecho substituto da eficácia do tratamento – e, por isso, não é geralmente recomendada.

Em doentes individuais, especialmente em cuidados de saúde terciários, a esteatose deve ser identificada por exames imagiológicos, de preferência a ECO porque está mais amplamente disponível e é menos dispendiosa que o *gold standard* – a RM (Tabela Complementar 2). A ECO tem sensibilidade limitada e não deteta adequadamente a esteatose quando é <20% [27,28] ou nos indivíduos com índice de massa corporal (IMC) elevado (>40kg/m²) [29]. Apesar de depender do observador, a ECO (ou a tomografia computadorizada [TC] ou a RM) diagnostica adequadamente a esteatose moderada a grave e fornece informações hepatobiliares adicionais; por isso, deve ser realizada como um exame de diagnóstico de primeira linha. No entanto, para os estudos de rastreio em larga escala, os biomarcadores séricos são a melhor opção visto que a disponibilidade

e o custo dos exames imagiológicos afeta consideravelmente a viabilidade (Tabela Complementar 3). As melhores pontuações validadas de esteatose são o índice do fígado gordo (FLI), o SteatoTest® e a pontuação do tecido adiposo hepático na DHNA; foram todas validadas externamente na população geral ou nos indivíduos com obesidade de grau III, e preveem inconsistentemente os desfechos e mortalidade metabólicos, hepáticos e cardiovasculares. Estas pontuações estão associadas a IR e preveem adequadamente a presença – mas não a gravidade – de esteatose [30]. Existe outra técnica imagiológica denominada parâmetro de atenuação controlada (CAP) que pode diagnosticar a esteatose, mas tem capacidade limitada para distinguir os graus histológicos e nunca foi comparada com a esteatose medida pela 1H-MRS. Além disso, os dados dos estudos que comparam o CAP com a ECO são inconclusivos. Portanto, são necessários mais dados para definir o papel do CAP.

Recomendações

- A ECO é o procedimento diagnóstico de primeira linha para a DHNA visto que fornece informações diagnósticas adicionais (**A1**)
- Sempre que as técnicas imagiológicas não estejam disponíveis ou não sejam viáveis (p. ex.: grandes estudos epidemiológicos), os biomarcadores séricos e as pontuações são alternativas aceitáveis para o diagnóstico da esteatose (**B2**)
- Uma estimativa quantitativa do tecido adiposo hepático só pode ser obtida pela 1H-MRS. Esta técnica é muito útil nos ensaios clínicos e nos estudos experimentais, mas é dispendiosa e não é recomendada em contexto clínico (**A1**)

Esteato-hepatite – EHNA

Fundamentação. O diagnóstico da EHNA fornece informação prognóstica importante e indica um aumento do risco de progressão da fibrose, cirrose e possíveis comorbidades hepáticas (CHC). A NASH também pode indicar um seguimento apertado e, possivelmente, maior necessidade de terapêutica mais intensiva.

Os métodos clínicos, bioquímicos ou imagiológicos não conseguem distinguir a EHNA da esteatose [31,32]. Os fragmentos de citoqueratina-18 (CK-18), produzidos durante a morte celular (fragmentos M65) ou a apoptose (fragmentos M30), têm um nível de precisão razoável no diagnóstico da EHNA (66% de sensibilidade e 82% de especificidade) [33,34]. A CK-18 modifica-se com a melhoria histológica, mas não é melhor que a alanina transaminase (ALT) na identificação de respondedores histológicos [35]. Até à data, os métodos não invasivos não estão validados para o diagnóstico da EHNA.

Recomendações

- O diagnóstico da EHNA tem de ser confirmado por uma biópsia hepática que apresente esteatose, balonização de hepatócitos e inflamação lobular (**A1**)

Fibrose

Fundamentação. A fibrose é o fator prognóstico mais importante na DHNA e está correlacionada com os desfechos e a mortalidade

hepáticos [24]. A presença da fibrose avançada identifica doentes que necessitam de estudo hepatológico pormenorizados que podem incluir a nível individual biópsia para confirmação diagnóstica e terapêuticas intensivas. A vigilância da progressão da fibrose também é necessária em intervalos de tempo variáveis.

Muitos marcadores séricos têm demonstrado precisão diagnóstica aceitável definida por uma área abaixo da curva característica de operação do recetor (ROC) >0,8 (Tabela Complementar 3) [32]. A pontuação da fibrose na DHNA (NFS) e a pontuação FIB-4 (FIB-4) foram validadas externamente em populações multiétnicas com DHNA, obtendo resultados consistentes. As pontuações NFS, FIB-4, *Enhanced Liver Fibrosis* (ELF) e o FibroTest® preveem mortalidade global, mortalidade cardiovascular e mortalidade específica por hepatopatia. A NFS prevê diabetes incidental, e as alterações na NFS estão associadas a mortalidade. Os métodos têm melhor desempenho na distinção entre fibrose avançada (≥F3) vs. fibrose não avançada, mas não na fibrose significativa (≥F2) ou qualquer fibrose (≥F1) vs. sem fibrose [36]. Adicionalmente, os valores preditivos negativos (VPN) para excluir fibrose avançada são superiores aos valores preditivos positivos (VPP) correspondentes [36,37]; portanto, os métodos não invasivos podem ser utilizados com confiança na estratificação do risco de primeira linha para excluir doença grave. No entanto, os valores preditivos dependem das taxas de prevalência e a maioria destes estudos foram realizados em centros terciários, em que a probabilidade pré-teste de fibrose avançada é superior à da comunidade.

Entre as técnicas imagiológicas, a realização da elastografia transitória é melhor para a cirrose (F4) do que para a fibrose avançada (F3). A elastografia tem uma maior taxa de falsos positivos comparativamente aos falsos negativos e VPN superiores aos VPP [38]; portanto, a capacidade de diagnosticar fibrose em ponte ou cirrose é insuficiente para a tomada de decisões clínicas. As principais desvantagens da elastografia transitória são os resultados não fiáveis na presença de IMC elevado e/ou espessura da prega torácica. Numa grande série populacional europeia não selecionada, até 20% dos exames apresentava resultados não fiáveis [39], principalmente nos indivíduos obesos com DHNA [38]. A sonda XL deve ser utilizada nestes doentes para reduzir a taxa de falha que permanece elevada (35%) [40].

Não existe qualquer consenso sobre os limiares ou estratégias de utilização na prática clínica para evitar a biópsia hepática [32]. Alguns dados indicam que a combinação da elastografia com marcadores séricos tem melhor desempenho do que os testes isolados [41]. Adicionalmente, as associações baseadas em dados longitudinais sobre a gravidade histológica e as avaliações não invasivas são urgentemente necessárias.

Recomendações

- Os biomarcadores e as pontuações da fibrose, bem como a elastografia transitória, são procedimentos não invasivos aceitáveis para a identificação de casos de baixo risco de fibrose avançada/cirrose (**A2**). A combinação de biomarcadores/pontuações com a elastografia transitória pode conferir precisão diagnóstica adicional e evitar várias biópsias hepáticas diagnósticas (**B2**)
- A vigilância da progressão da fibrose na prática clínica pode basear-se numa combinação de biomarcadores/pontuações com elastografia transitória, embora esta estratégia necessite de validação (**C2**)

- A identificação de fibrose avançada ou cirrose por biomarcadores séricos/pontuações e/ou elastografia é menos precisa e necessita de confirmação por biópsia hepática, de acordo com o contexto clínico (**B2**)
- Em doentes selecionados com alto risco de progressão da doença hepática, a vigilância deve incluir pelo menos uma biópsia hepática de repetição após 5 anos de seguimento (**C2**)

Métodos não invasivos na DHNA pediátrica

O documento de posição do Comité de Hepatologia da Sociedade Europeia de Gastrenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (ESPGHAN) definiu recentemente os critérios de diagnóstico da DHNA pediátrica [42]. Em crianças obesas, deve-se sempre suspeitar de DHNA; os níveis elevados de aminotransferases e a hiper-ecogenicidade hepática merecem avaliação adicional e a exclusão de outras causas de doença hepática. Devido à fraca sensibilidade destes métodos nas crianças com excesso de peso ou obesidade, os marcadores não invasivos e as técnicas imagiológicas são o primeiro passo diagnóstico [43].

Recomendações

- Nas crianças, os preditores da fibrose, incluindo a elastografia, a técnica de impulso de força de radiação acústica (ARFI) e os biomarcadores séricos podem ajudar a reduzir o número de biópsias (**B2**)

Patologias metabólicas comuns relacionadas com a DHNA

A DHNA está fortemente associada a IR – não só no fígado, mas também no músculo e tecido adiposo [44] – e a SM – definida como o conjunto de três das cinco seguintes características associadas a IR: glicemia em jejum alterada (IFG) ou DMT2, hipertrigliceridemia, diminuição do colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL) (ajustado por sexo), aumento da circunferência abdominal (ajustada por etnia) e pressão arterial elevada [45]. Como todos os componentes da SM se associam com o conteúdo lipídico hepático, independentemente do IMC, a presença de SM em qualquer doente deve levar a uma avaliação do risco de DHNA e, de igual modo, a presença de DHNA deve levar a uma avaliação de todos os componentes da SM.

A acumulação hepática de triglicéridos é acompanhada por alterações no metabolismo energético hepático [46] e supressão da produção de glicose e de lipoproteína de muito baixa densidade hepáticas mediadas pela insulina [47], levando à hiperglicemia, hipertrigliceridemia e hiperinsulinemia. Nos indivíduos não diabéticos, o produto da glicemia em jejum (em mmol/L) e da insulina (em mU/ml) dividido por 22,5 (HOMA-IR) pode servir como substituto para a IR [48] e, por isso, é uma alternativa aceitável às provas dinâmicas mais demoradas e dispendiosas. A progressão da doença hepática foi associada a persistência ou agravamento das alterações metabólicas, incluindo a HOMA-IR [49,50]. No entanto, a validade da HOMA-IR depende da capacidade de secreção de insulina na adaptação à IR, questionando o seu interesse na diabetes evidente. Além disso, os ensaios sobre a medição da insulina variam amplamente, e não existe qualquer acordo sobre o limiar que define a IR utilizando a HOMA-IR.

Recomendações

- A HOMA-IR fornece um substituto da estimativa da IR nos indivíduos não diabéticos e, por isso, pode ser recomendada desde que estabelecidos valores de referência adequados (**A1**)
- A HOMA-IR tem utilização limitada no diagnóstico da DHNA nos doentes com fatores de risco metabólicos. Poderá confirmar alterações na sensibilidade à insulina, favorecendo assim um diagnóstico da DHNA associada a IR nos casos de incerteza diagnóstica (p. ex.: esteatose na ECO com peso corporal normal) (**B2**)
- Durante o seguimento, a HOMA-IR pode auxiliar na identificação de doentes com risco de progressão para EHNA ou fibrose em casos selecionados. A melhoria na HOMA-IR durante a perda ponderal pode indicar melhoria metabólica que poderá ser benéfica para a DHNA (**C2**)

Obesidade

O IMC e a circunferência abdominal – uma medida de adiposidade visceral – estão positivamente relacionados com a presença de DHNA [51] e predizem doença avançada, particularmente nos idosos [52]. Uma grande proporção de doentes com cirrose criptogénica têm alta prevalência de fatores de risco metabólicos [53], indicando que a maioria dos casos de cirrose criptogénica são EHNA “burnout”. As comorbilidades comuns da obesidade – tais como a DMT2, a síndrome de apneia do sono [54], a síndrome do ovário poliquístico e outras patologias endócrinas (hipogonadismo) aumentam a prevalência e a gravidade da DHNA.

Adicionalmente, os doentes com IMC <30 kg/m² (ou mesmo <25 kg/m²) mas com acumulação de tecido adiposo visceral ou disfunção do tecido adiposo podem apresentar DHNA com/sem alterações das enzimas hepáticas [44,55]. O conceito utilizado atualmente de indivíduos obesos “metabolicamente saudáveis” deve ser considerado com cautela dado que podem apresentar expressão genética semelhante à dos doentes obesos metabolicamente alterados, e podem ter alterações dos parâmetros hepáticos e desfechos clínicos adversos quando examinados longitudinalmente [56,57].

Recomendações

- O seguimento é obrigatório na obesidade, que é o principal fenótipo e fator de risco da DHNA, que é causada pela IR, e aumenta igualmente o risco de doença avançada (**A1**)
- A maioria dos indivíduos magros com DHNA apresentam IR e alterações na distribuição do tecido adiposo corporal, mesmo que tenham alterações metabólicas menos graves que os indivíduos com excesso de peso e DHNA. Apesar disso, o seguimento é necessário devido à possível progressão da doença (**B2**)

Diabetes mellitus

Os doentes com DMT2 são insulinoresistentes, frequentemente obesos, dislipidémicos, apresentam aumento das enzimas hepáti-

cas [58] e tendem a acumular tecido adiposo hepático, independentemente do IMC [59,60]. A prevalência da DHNA é também superior nos indivíduos com risco de DMT2, definida como uma hemoglobina glicosilada (HbA1c) de 5,7–6,4% (38,8–46,4 mmol/mol), IFG (glicemia em jejum: 100–125 mg/dl [5,55–6,94 mmol/L]) e/ou tolerância à glicose alterada (TGA; glicose: 140–199 mg/dl [7,77–11,04 mmol/L] 2 h após uma prova de tolerância com 75 g de glicose oral [PTGO]). O risco de diabetes e a DMT2 associam-se frequentemente a gravidade da DHNA, progressão para a EHNA, fibrose avançada e desenvolvimento de CHC [4,61], independentemente das enzimas hepáticas [6]. Por outro lado, a DHNA definida por ECO está associada a um risco 2–5 vezes superior de desenvolver DMT2 após o ajuste para vários fatores de confundimento de estilo de vida e metabólicos [62]. A PTGO 75g padrão deve por isso ser realizada nos indivíduos com risco aumentado de diabetes [63,64].

A insulinoaterapia aumenta a gordura corporal, mas não parece provocar ou agravar a DHNA na diabetes [65,66]. Embora a perfusão aguda de insulina aumente o conteúdo lipídico hepático de modo dependente da dose na DMT2 [67], a insulinoaterapia crônica melhora a IR do tecido adiposo e, por isso, reduz o fluxo de ácidos gordos não esterificados e o conteúdo lipídico hepático.

Recomendações

- Nos indivíduos com DHNA, o rastreio da diabetes é obrigatório e faz-se a partir da glicemia em jejum ou aleatória ou HbA1c (A1) e, se disponível, pela PTGO 75 g nos grupos de alto risco (B1)
- Nos doentes com DMT2, o diagnóstico de DHNA investigado independentemente dos níveis das enzimas hepáticas, uma vez que os doentes com DMT2 têm alto risco de progressão da doença (A2)

Tabela 3. Protocolo para uma avaliação abrangente dos doentes com suspeita de DHNA.

Nível	Variável
Inicial	1. Consumo de álcool: <20 g/dia (mulheres), <30 g/dia (homens)
	2. Antecedentes pessoais e familiares de diabetes, hipertensão e DCV
	3. IMC, circunferência abdominal, alterações no peso corporal
	4. Infecção pelo vírus da hepatite B/hepatite C
	5. História de fármacos associados a esteatose
	6. Enzimas hepáticas (aspartato e alanina transaminases [gama-glutamyl transpeptidase])
	7. Glicemia em jejum, HbA1c, PTGO, (insulina em jejum [HOMA-IR])
	8. Hemograma
	9. Níveis séricos colesterol total e HDL, triglicéridos, ácido úrico
	10. Ecografia (se existir suspeita por aumento das enzimas hepáticas)
Alargado*	1. Ferritina e saturação de transferrina
	2. Testes para a síndrome do ovário poliquístico, doença celíaca e tireoideia
	3. Testes para doenças hepáticas raras (Wilson, doença autoimune, deficiência de alfa-1 antitripsina)

*Segundo uma probabilidade *a priori* ou avaliação clínica.

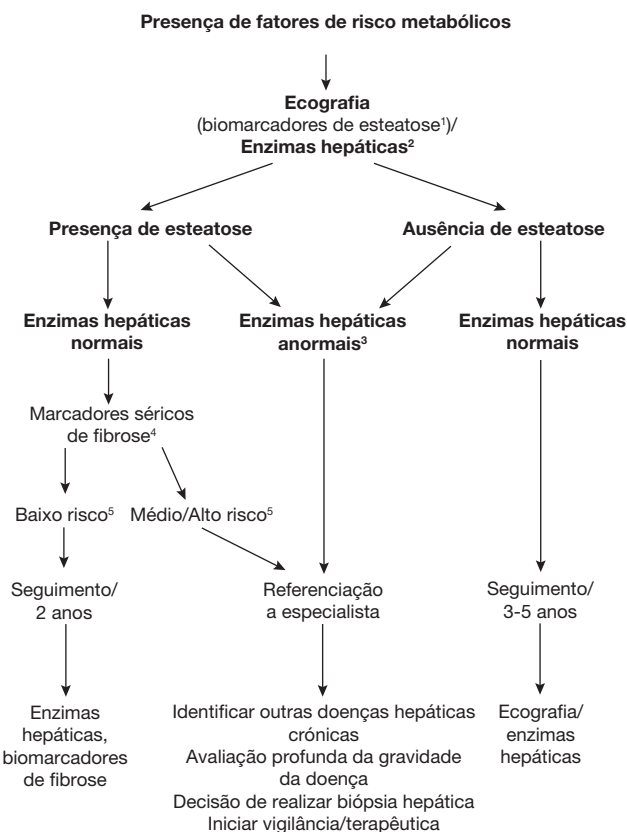


Fig. 1. Fluxograma de diagnóstico para avaliar e vigiar a gravidade da doença na suspeita de DHNA e fatores de risco metabólicos. ¹Biomarcadores de esteatose: Índice do Fígado Gordido, SteatoTest®, pontuação de tecido adiposo na DHNA (ver Tabelas). ²Testes da função hepática: AST + ALT, γ-GT. ³Qualquer aumento da ALT, AST ou γ-GT. ⁴Marcadores séricos de fibrose: Pontuação da Fibrose na DHNA, FIB-4, testes comerciais (FibroTest®, FibroMeter®, ELF). ⁵Baixo risco: indicativo de ausência de fibrose/fibrose ligeira; Médio/Alto risco: indicativo de fibrose significativa ou cirrose (ver Tabelas).

Algoritmo de diagnóstico e seguimento

O achado incidental de esteatose deve levar à avaliação abrangente dos antecedentes pessoais e familiares de doenças associadas a DHNA e à exclusão de causas secundárias da esteatose. O rastreio metabólico deve incluir a avaliação cuidadosa de todos os componentes da SM [63]. Da mesma forma, a presença de obesidade/DMT2 ou o achado incidental do aumento das enzimas hepáticas nos doentes com fatores de risco metabólicos devem levar a rastreio não invasivo da esteatose, a EHNA e a fibrose (Tabela 3).

Os marcadores substitutos da fibrose (NFS, FIB-4, ELF ou FibroTest®) devem ser calculados para cada doente com DHNA para excluir fibrose significativa (≥F2). Se não puder ser excluída fibrose significativa, os doentes devem ser referenciados a um centro de hepatologia para a realização de elastografia transitória; se for confirmada fibrose significativa, o diagnóstico final deve ser realizado por biópsia hepática (Fig. 1). Todos os casos com diabetes ou risco de diabetes devem ser referenciados a um centro de diabetes para abordagem otimizada. Os doentes com risco aumentado de diabetes devem ser incluídos num programa estruturado de alteração do estilo de vida. A obesidade deve levar à inclusão dos doentes num programa estruturado de perda ponderal e/ou à referência a um especialista em obesidade. Finalmente, todos os casos devem fazer rastreio completo de doença cardiovascular (DCV).

Normas de Orientação Clínica

O seguimento otimizado dos doentes com DHNA ainda está por determinar. O risco de progressão da doença hepática e das patologias metabólicas subjacentes, bem como o custo e a carga de trabalho dos profissionais de saúde, precisam de ser considerados. A vigilância deve incluir bioquímica de rotina, avaliação das comorbilidades e avaliação não invasiva da fibrose. Os doentes com FGNA sem agravamento dos fatores de risco metabólicos devem ser avaliados em intervalos de 2–3 anos. Os doentes com EHNA e/ou fibrose devem ser avaliados anualmente, e aqueles com cirrose associada a EHNA devem ser avaliados em intervalos de 6 meses. A nível individual poderá repetir-se a biópsia hepática após 5 anos.

História natural e complicações

Progressão da doença

Em geral, a DHNA progride lentamente tanto nos adultos como nas crianças, mas a fibrose progride rapidamente em 20% dos casos [68]. A taxa de progressão corresponde a um estadio de fibrose a cada 14 anos no FGNA e a cada 7 anos na EHNA, e duplica com a hipertensão arterial [68]. A EHNA está associada a uma elevada taxa de mortalidade padronizada comparativamente à população geral [69], e a doença hepática é a terceira causa de morte mais comum após DCV e carcinoma. A DHNA diagnosticada por ECO não está associada a aumento da mortalidade [70], provavelmente porque a progressão para EHNA e fibrose é rara na esteatose isolada [49,50].

A DHNA pediátrica é motivo de preocupação devido ao potencial para graves complicações hepáticas mais tarde na vida [8]. A cirrose associada a EHNA já foi descrita aos 8 anos de idade [71].

Recomendações

- Os doentes com EHNA e fibrose associada a hipertensão devem ser vigiados frequentemente devido a um maior risco de progressão da doença (**B1**)

Doença cardiovascular

A prevalência e incidência da DCV é superior na DHNA face a controlos emparelhados e é causada pela associação entre a DHNA e os componentes da SM ([72,73] (Tabela Complementar 4). A DCV é uma causa de morte mais comum do que a doença hepática na DHNA [73]. Na maioria dos estudos, os marcadores bioquímicos de aterosclerose (colesterol HDL diminuído, triglicéridos altos) ou inflamação (proteína C reativa [PCR] ultrasensível) e o aumento dos níveis de fatores pró-coagulantes/pró-trombóticos é mais comum na DHNA que nos indivíduos sem esteatose [73]. As lesões pré-aterogénicas tais como o aumento da espessura íntima-média carotídea, as calcificações da artéria coronária, aorta abdominal e válvula aórtica, a disfunção endotelial e a insensibilidade funcional da parede arterial são mais prevalentes na DHNA e estão, em alguns estudos, correlacionadas com a gravidade histológica. Também foram demonstradas outras anomalias tais como as alterações ecocardiográficas, do ECG e do metabolismo energético cardíaco [74]. Estas são em grande parte independentes dos fatores de risco tradicionais, duração da diabetes, controlo glicémico, terapêutica e componentes da SM. Na população geral, a esteatose detetada por ECO e os seus marcadores substitutos (p. ex.: FLI) estão associados a um maior risco de mortalidade por DCV a longo prazo [75], e este risco é superior na EHNA e na fibrose avançada [73].

O consenso global é que a DCV deve ser identificada na DHNA, independentemente da presença de fatores de risco tradicionais. Por outro lado, o rastreio da DHNA deve ser feito nos indivíduos com alto risco de DCV. Foi prospetivamente estabelecida uma associação entre os níveis séricos da gama-glutamil transpeptidase (GGT) e a incidência da DCV, embora seja insuficiente para definir protocolos de seguimento. É notável que a DCV e os fatores de risco metabólicos também sejam descritos nos adolescentes e nas crianças com DHNA [76].

Recomendações

- As complicações cardiovasculares ditam com frequência o desfecho da DHNA, e o rastreio do sistema cardiovascular é obrigatório em todos os indivíduos, pelo menos para avaliação detalhada dos fatores de risco (**A1**)

Carcinoma hepatocelular

Os estudos epidemiológicos de grande escala têm repetidamente associado a obesidade e a DMT2 ao risco de CHC, e a ocorrência do CHC foi também descrita na DHNA/cirrose criptogénica. A incidência cumulativa de CHC associado a DHNA (> 10 vezes superior na DMT2 e na obesidade) varia de acordo com a população de estudo (populacional, coortes de história natural vs. de centro com/sem fibrose ou cirrose) entre 7,6% aos 5 anos nos indivíduos com fibrose avançada ou cirrose e apenas 0,25% numa série maior seguida por 5,6 anos [77].

Ao diagnóstico, os doentes com CHC associado a DHNA são mais velhos que aqueles com CHC sem DHNA, têm mais comorbilidades extra-hepáticas, mas uma menor prevalência da cirrose (apenas 2/3 dos casos) (Tabela Complementar 5). No entanto, o CHC associado a DHNA pode ser diagnosticado nos estadios mais avançados pela vigilância menos sistemática e por menor tratamento. Os dados sobre a sobrevida são controversos. Atualmente, a DHNA é a segunda principal indicação para o transplante por CHC nos EUA [78].

O grande número de casos com DHNA em risco de desenvolver CHC faz com que a vigilância sistemática seja em grande medida impraticável. O polimorfismo genético C>G de rs738409 da *PNPLA3* foi associado a um risco aumentado de CHC e pode fornecer a estratificação de risco-doente para vigilância adaptada do CHC na DHNA, mas ainda não é considerada rentável (Tabela Complementar 1).

Recomendações

- Embora a DHNA seja um fator de risco para o CHC – que também pode desenvolver-se no estadio pré-cirrótico – e o risco seja ainda maior na presença do polimorfismo C>G de rs738409 da *PNPLA3*, atualmente não existe qualquer recomendação sobre a programação da vigilância e a sua efetividade (**B1**)

Outras patologias extra-hepáticas

A doença renal crónica (DRC) encontra-se em 20-50% dos doentes com DHNA, particularmente na EHNA confirmada por biópsia [79]. A DHNA definida por ECO apresenta um risco ajustado 1,5-2 vezes superior de DRC incidental na diabetes mellitus tipo 1 [80].

A DHNA está também associada a cancro colorretal [81], doença óssea metabólica (deficiência de vitamina D, osteoporose) [62,82] e doenças metabólicas raras (lipodistrofias, glicogenoses).

Tratamento

Fundamentação. O tratamento bem-sucedido da EHNA deve melhorar os desfechos, ou seja, deve reduzir a mortalidade associada a EHNA e a progressão para cirrose ou CHC. A resolução das lesões histológicas que definem a EHNA é agora aceite como um *endpoint* substituto, especialmente nos ensaios clínicos. Estão apenas disponíveis alguns ensaios clínicos aleatorizados (ECA) bem-deseñados com melhoria/regressão da necroinflamação hepática e/ou fibrose como principais desfechos [83-105] (Tabela 4).

Alterações da dieta e do estilo de vida

Fundamentação. A evidência epidemiológica sugere uma relação estreita entre o estilo de vida pouco saudável e a DHNA [106], o que torna a alteração do estilo de vida obrigatória em todos os doentes (Tabela 5). É de notar que o consumo diário de álcool até 30 g (no sexo masculino) ou até 20 g (no sexo feminino) é insuficiente para induzir esteatose alcoólica e pode até desempenhar um papel protetor contra a DHNA, a EHNA e a fibrose comparativamente à abstinência total.

A perda ponderal de quantidades relativamente pequenas reduz o tecido adiposo hepático e melhora a IR hepática [119]. Num ECA piloto sobre a terapêutica cognitivocomportamental, a intervenção no estilo de vida resultou em maior perda ponderal, numa resolução mais frequente da EHNA e numa diminuição maior “borderline” ($p=0,05$) na pontuação NAS [93]. Numa análise *post hoc*, uma perda ponderal $\geq 7\%$ foi associada a melhoria histológica. Num estudo não controlado de 12 meses com 261 biópsias emparelhadas, uma perda ponderal modesta induzida pelo estilo de vida foi associada a regressão da EHNA (25% de todos os casos) sem agravamento da fibrose [120].

As abordagens pragmáticas combinando restrição dietética com o aumento progressivo dos exercícios aeróbios/treino de resistência [121] são preferíveis e devem ser adaptadas individualmente. Não existem quaisquer dados sobre os seus efeitos a longo prazo na história natural da DHNA.

Recomendações

- Os programas estruturados que visam as alterações do estilo de vida para a dieta saudável e atividade física habitual são aconselhados na DHNA (**C2**)
- Os doentes sem EHNA ou fibrose só devem receber aconselhamento de dieta saudável e atividade física sem farmacoterapia para a sua patologia hepática (**B2**)
- Nos indivíduos com excesso de peso/obesidade e DHNA, uma perda ponderal de 7–10% é o objetivo da maioria das intervenções no estilo de vida e resulta na melhoria histológica e das enzimas hepáticas (**B1**)
- As recomendações dietéticas devem considerar a restrição energética e a evicção de produtos que provocam a DHNA (tais como os alimentos processados, e os alimentos e bebidas ricos em frutose adicionada). A composição de macronutrientes deve ser ajustada de acordo com a dieta mediterrânica (**B1**)

- Tanto o exercício aeróbio como o treino de resistência reduzem efetivamente o tecido adiposo hepático. A escolha do exercício deve ser adaptada com base nas preferências dos doentes que devem ser mantidas a longo prazo (**B2**)

Terapêutica

Fundamentação. A terapêutica deve ser indicada não só para a EHNA progressiva (fibrose em ponte e cirrose), mas também para a EHNA precoce com risco aumentado de progressão da fibrose (idade >50 anos; diabetes, SM, aumento da ALT [122]) ou para a EHNA ativa com aumento da atividade necroinflamatória [123]. Atualmente não existem fármacos para a EHNA avaliados em ensaios clínicos de fase III ou aprovados pelos reguladores. Portanto, não existe qualquer terapêutica específica que possa ser solidamente recomendada, e qualquer utilização é não aprovada (para mais informações, ver [124-126], Tabela 4). A segurança e a tolerabilidade são pré-requisitos essenciais para a terapêutica devido às comorbilidades associadas à EHNA e à polimedicação, uma fonte potencial de interações medicamentosas.

Agentes insulinosensibilizantes

Existe pouca evidência da eficácia histológica da metformina na EHNA [84,90,92]. O efeito da metformina no tecido adiposo hepático é fraco devido à sua incapacidade de restaurar os níveis séricos de adiponectina a curto prazo [127]. Alguns dados pré-clínicos confirmam uma atividade antitumorigénica da metformina no carcinoma hepático [128], embora a demonstração das taxas reduzidas do CHC nos humanos esteja limitada a estudos retrospectivos [129] e seja insuficiente para recomendações baseadas na evidência.

As tiazolidinedionas são agonistas do recetor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR) γ com efeitos insulinosensibilizantes. O ensaio clínico PIVENS comparou uma dose baixa de pioglitazona vs. vitamina E vs. placebo durante 2 anos nos doentes não diabéticos. A pioglitazona melhorou todas as características histológicas (exceto a fibrose) e alcançou a resolução da EHNA mais vezes que o placebo [95]. O benefício histológico ocorreu juntamente com a melhoria da ALT e a correção parcial da IR. Foram descritos resultados semelhantes em dois ECA menores e mais curtos [85,89]. A terapêutica prolongada com rosiglitazona até 2 anos não resultou em melhoria histológica adicional [88,94], embora esta não tenha sido formalmente avaliada com pioglitazona. Os efeitos colaterais da glitazonas são motivo de preocupação: ganho ponderal, fraturas ósseas no sexo feminino e, raramente, insuficiência cardíaca congestiva. Apesar do perfil de segurança e tolerabilidade, a pioglitazona pode ser utilizada em doentes selecionados com EHNA, particularmente na DMT2 na qual o fármaco tem utilização aprovada.

Os miméticos da incretina, que atuam na interação glicose-insulina, têm demonstrado resultados favoráveis sobre as enzimas hepáticas nos estudos de pré-comercialização [130]. Um pequeno ensaio-piloto com injeções diárias de liraglutido alcançou o desfecho histológico da remissão da EHNA sem agravamento da fibrose [105].

Antioxidantes, agentes citoprotetores e agentes hipolipemiantes

No ensaio clínico PIVENS, a vitamina E (800 UI/dia) melhorou a esteatose, a inflamação e a balonização, e induziu a resolução da

Normas de Orientação Clínica

Tabela 4. Ensaios clínicos aleatorizados com desfechos histológicos na DHNA.

Autor, ano [ref]	Tratamento	Duração	Resultados significativos	Comentário
Lindor, 2004 [83]	AUDC 13-15 mg/kg; 70; P: 74	2 anos	Alterações na esteatose, não existem diferenças na inflamação ou fibrose entre os braços	Biópsias de seguimento – AUDC: 50; P: 57. Sem diferenças nos efeitos colaterais entre os braços
Bugianesi, 2005 [84]	MET 2 g; 55; Vit. E: 28; dieta: 27	12 meses	Diminuição do tecido adiposo, da fibrose e da necroinflamação com MET no seguimento	Vit. E e dieta combinadas como grupo de controlo. Biópsias de seguimento apenas nos doentes não respondedores à metformina
Belfort, 2006 [85]	PIO 45 mg; 29; aconselhamento: 25	6 meses	Melhoria bioquímica e histológica (incluindo fibrose)	4 casos sob PIO e 3 sob aconselhamento perderam-se no seguimento
Zelber-Sagi, 2006 [86]	ORL 120 mg x 3: 21; P: 23 (biópsia: 40)	6 meses	Maior perda ponderal e reversão da esteatose com ORL. Sem efeitos na fibrose	Apenas 11 casos por braço fizeram biópsia no seguimento
Dufour, 2006 [87]	AUDC 12-15 mg + Vit. E 400 UI: 15; AUDC + P: 18; P + P: 15	2 anos	Melhoria no índice histológico composto com tratamento combinado. Sem alterações na fibrose	Apenas 32 casos com biópsia no final do tratamento
Ratzl, 2008 [88] Ensaio clínico FLIRT	RSG 8 mg; 32; P: 31	12 meses	Melhoria da esteatose, sem alterações na fibrose ou na necroinflamação	10 casos perderam-se no seguimento (RSG: 7; P: 3); ganho ponderal como efeito colateral do tratamento
Aithal, 2008 [89]	PIO 30 mg; 37; P: 37	12 meses	Melhoria histológica (lesão hepática e fibrose)	13 doentes saíram; diferença de ganho ponderal: 3 kg com PIO
Haukeland, 2009 [90]	MET 2,5-3 g; 24; controlos: 24	6 meses	Sem alterações bioquímicas, histológicas e na esteatose avaliada por TC	Análise por protocolo; 4 abandonos sob MET
Harrison, 2009 [91]	Vit. E 800 UI + ORL 120 mg x 3: 25; Vit. E: 25	36 semanas	Melhoria semelhante na esteatose, inflamação e pontuações da atividade	Apenas 41 biópsias no seguimento. Perda ponderal ≥9% associada a melhoria histológica, independentemente do tratamento
Shields, 2009 [92]	MET 0,5-1 g; 9; aconselhamento: 10	12 meses	Sem diferenças bioquímicas ou histológicas	Análise por protocolo; 3 abandonos no aconselhamento
Promrat, 2010 [93]	TCC: 21; controlos: 10	48 semanas	Diminuição do tecido adiposo e pontuação NAS	A TCC visou a perda ponderal de 7-10. Resultados associados a perda ponderal
Ratzl, 2010 [94] Ensaio clínico FLIRT 2	RSG: 53 (RSG-RSG: 25; P-RSG: 28)	24 meses	Sem melhoria histológica após um ano	Prolongamento de [88]. Apenas 40 casos disponíveis no seguimento (RSG-RSG: 18; P-RSG: 22)
Sanyal, 2010 [95] Ensaio clínico PIVENS	EHNA (sem DMT2) PIO 30 mg; 87; Vit. E: 84; P: 83	96 semanas	Vit. E foi melhor que o P, mas foi pior que a PIO. Ambos os fármacos foram melhores que o P na esteatose e na inflamação lobular, mas não na fibrose	A PIO não alcançou o desfecho primário, mas a Vit. E foi melhor que o P na pontuação da EHNA. O ganho ponderal foi um efeito colateral da PIO
Leuschner, 2010 [96]	AUDC 23-28 mg/kg; 95; P: 91	18 meses	O AUDC foi melhor que o P apenas na inflamação lobular	A pontuação NAS esteve apenas disponível em 69 (AUDC) e 68 (P)
Zein, 2011 [97]	PTX 400 mg x 3: 26; P: 29	12 meses	A PTX melhorou mais a pontuação NAS que o P. Melhoria (não significativa) da fibrose com PTX	3 abandonos em ambos os grupos; sem alterações nos desfechos secundários (enzimas hepáticas, apoptose, citocinas)
Lavine, 2011 [98] Ensaio clínico TONIC	Estudo pediátrico – Vit. E 800 UI: 57; MET 1 g: 57; P: 58	96 semanas	A pontuação NAS melhorou em todos os grupos. Comparativamente ao P, não foram observados benefícios com a Vit. E ou a MET nas aminotransferases	A histologia foi apenas um desfecho secundário
Neuschwander-Tetri, 2015 [99] Ensaio clínico FLINT	AOC 25 mg; 141; P: 142 Ensaio clínico interrompido por superioridade – AOC: 102; P: 98	72 semanas	Interrupção precoce por eficácia: melhoria histológica (esteatose, inflamação lobular, balonização, fibrose) em 45% com AOC vs. 21% com P	Aumento do colesterol LDL e prurido em 23% dos casos tratados com AOC (por vezes intensos, generalizados e/ou que interferem com as atividades diárias)
Valenti, 2014 [100]	EHNA com níveis elevados de ferritina ou ferro. Flebotomia + estilo de vida: 21; estilo de vida: 17	2 anos	A pontuação da atividade da DHNA (desfecho primário) melhorou significativamente. A histologia foi desfecho secundário	Apenas 19 casos foram submetidos a biópsias de seguimento
Takeshita, 2014 [101]	EZE 10 mg/dia: 17; P: 15	6 meses	Interrompido prematuramente por eventos adversos do EZE (HbA1c elevada). Melhoria modesta no estadiamento da DHNA e na balonização	Apenas 16 sob EZE e 12 sob P tinham seguimento histológico disponível (desfecho secundário). Perfil lipídico e expressão genética sugestivos de alterações na oxidação dos ácidos gordos de cadeia longa
Sanyal 2014 [102]	AEP 1,8 g; 82; AEP 2,7 g: 86; P: 75	12 meses	Nos 3 braços, 40%, 37% e 35,9% dos casos alcançou o <i>endpoint</i> primário (pontuação da atividade da DHNA ≤3, sem agravamento da fibrose)	Sem efeitos significativos nas enzimas hepáticas, insulinoresistência, adiponectina, queratina 18, proteína C reativa ultrasensível ou ácido hialurónico
Loomba, 2015 [103] Ensaio clínico MOZART	EZE 10 mg; 25; P: 25	24 semanas	O EZE não foi melhor que o P no conteúdo lipídico hepático (desfecho primário, avaliação com RM)	Sem alterações histológicas ou rigidez hepática com RM (desfechos secundários)
Argo, 2015 [104]	AGPI n-3 3 g; 17; P: 17	1 ano	Os AGPI não foram melhores que o P na redução da NAS ≥2 pontos sem progressão da fibrose	Os AGPI levaram à diminuição do conteúdo lipídico hepático por vários critérios, independentemente da perda ponderal
Armstrong, 2015 [105] Programa LEAN	LIRA 1,8 mg; 26; P: 26	48 semanas (prolongamento até 72)	A resolução da EHNA foi significativamente superior com LIRA (39% vs. 9% com P)	Resolução da EHNA, sem agravamento da fibrose como desfecho primário (biópsias de seguimento disponíveis em 23 + 22 casos)

AEP: ácido eicosapentanoico; AGPI: ácidos gordos polinsaturados; AOC: ácido obeticoico; C: grupo de controlo; E: grupo experimental; EZE: ezetimiba; HbA1c: hemoglobina glicosilada; LIRA: liraglutido; MET: metformina; NAS: pontuação da atividade da DHNA; ORL: orlistato; P: placebo; PIO: pioglitazona; PTX: pentoxifilina; RM: ressonância magnética; RSG: rosiglitazona; FCC: terapêutica cognitivocomportamental.

Tabela 5. Elementos de uma abordagem abrangente do estilo de vida no tratamento da DHNA.

Tópico	Intervenção sugerida	Literatura de suporte
Restrição energética	Deficiência energética de 500-1000 kcal para induzir uma perda ponderal de 500-1000 g/semana	A restrição calórica provoca perda ponderal e redução do tecido adiposo hepático, independentemente da composição de macronutrientes da dieta [107]
	Objetivo de perda ponderal total de 7-10%	Uma intervenção intensiva no estilo de vida por 12 meses com uma média de perda ponderal de 8% leva à redução significativa da esteatose hepática [108]
	Abordagem de manutenção a longo prazo, combinando a atividade física de acordo com os princípios da terapêutica cognitivocomportamental	O tecido adiposo hepático aumenta juntamente com a recuperação da gordura corporal total, mas a maioria dos efeitos metabólicos benéficos é mantida e a progressão para a DMT2 é retardada [109]
Composição de macronutrientes	<ul style="list-style-type: none"> Ingestão baixa a moderada de gorduras e ingestão moderada a alta de hidratos de carbono Dietas cetogénicas pobres em hidratos de carbono ou ricas em proteínas 	A adesão à dieta mediterrânica foi associada a redução do tecido adiposo hepático na 1h-MRS quando comparada com uma dieta pobre em gorduras/rica em hidratos de carbono numa comparação cruzada [110, 111]
Ingestão de frutose	Evitar alimentos e bebidas contendo frutose	Na população geral, foi descrita uma associação entre a ingestão de frutose e a DHNA [9]
Consumo de álcool	Manter os níveis alcoólicos estritamente abaixo do limiar de risco (30 g no sexo masculino; 20 g no sexo feminino)	Nos inquéritos epidemiológicos, o consumo moderado de álcool (nomeadamente vinho) abaixo do limiar de risco está associado a menor prevalência da DHNA, EHNA e fibrose na histologia [112-114]. A abstinência total é obrigatória na EHNA-cirrose para reduzir o risco de CHC [115]
Consumo de café	Sem limitações específicas por hepatopatia	Desempenha um papel protetor na DHNA, tal como na doença hepática de outras etiologias, e reduz a gravidade histológica e os desfechos específicos por hepatopatia [116]
Exercício/Atividade física	<ul style="list-style-type: none"> A atividade física aeróbia de intensidade moderada com duração de 150-200 min/semana em 3-5 sessões é geralmente preferida (p. ex.: caminhadas rápidas e ciclismo estático) O treino de resistência também é eficaz e promove a aptidão musculoesquelética, tendo impacto nos fatores de risco metabólicos As taxas elevadas de sonolência diurna e de fadiga que originam inatividade reduzem a adesão ao exercício 	A atividade física resulta de uma relação dose-efeito, e a caminhada vigorosa – contrariamente ao exercício moderado (caminhada rápida) – traz o máximo benefício, inclusive na EHNA e na fibrose [110, 117, 118]. Qualquer envolvimento em atividades físicas ou aumento relativo a níveis anteriores é, de qualquer maneira, melhor que continuar inativo

EHNA em 36% dos doentes (21% no braço placebo) [95]. A diminuição da ALT estava associada a melhoria histológica e os não respondedores histológicos não tiveram diminuição da ALT [131]. No ensaio clínico pediátrico TONIC [98], a vitamina E não conseguiu reduzir as aminotransferases, a esteatose e a inflamação, mas melhorou a balonização e duplicou a taxa de eliminação da EHNA vs. placebo. Estes resultados contrariam ensaios clínicos anteriores, que eram na sua maioria negativos nos adultos e nas crianças. Existem preocupações sobre a segurança a longo prazo da vitamina E, principalmente um aumento da mortalidade global [132], acidente vascular cerebral hemorrágico [133] e carcinoma da próstata nos homens com mais de 50 anos de idade [134]. A vitamina E pode ser utilizada nos doentes com EHNA sem diabetes e sem cirrose, mas são necessários mais estudos antes de ser solidamente recomendada.

O ácido ursodesoxicólico (AUDC) foi avaliado em vários ECA com diferentes doses e até 2 anos, mas apenas demonstrou alguma melhoria bioquímica, não histológica [83,87,96].

O ácido obeticólico, um agonista sintético do recetor farnesoi-de X, melhorou a IR na DMT2 [135]. No ensaio clínico de fase IIb FLINT, o tratamento de 72 semanas com ácido obeticólico nos doentes com EHNA sem cirrose melhorou todas as lesões da EHNA e a fibrose [99]. As principais questões de segurança e tolerabilidade foram o aumento do colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e o prurido.

Os dados preliminares de estudos pequenos ou não controlados indicaram que os ácidos gordos polinsaturados (AGPI) n-3 po-

dem reduzir o tecido adiposo hepático [136]; contudo, dois ensaios clínicos que avaliaram os desfechos histológicos dos AGPI foram negativos [102,104]. Os dados disponíveis sobre a pentoxifilina e o orlistato são limitados ou inconclusivos [86,91,97]. Além disso, os dados sobre os fármacos hipolipemiantes são fracos; ensaios clínicos recentes da ezetimiba foram negativos [101,103], e as estatinas não foram adequadamente avaliadas. A sua utilização na DHNA é segura, sem risco aumentado de hepatotoxicidade, e pode ainda reduzir significativamente as aminotransferases [137].

Novos agentes promissores com propriedades anti-inflamatórias, antifibróticas ou insulinosensibilizantes (agonistas duplos PPAR α/δ , antagonistas duplos do recetor de quimiocina [CCR] 2/CCR5, e conjugados de ácidos gordos/biliares), e agentes antifibróticos (anticorpos monoclonais anti-proteína semelhante a antilisl oxidase [anti-LOXL2]), estão também a ser avaliados em ECA de fase tardia da EHNA.

Recomendações

- A farmacoterapia deve ser reservada para doentes com EHNA, particularmente para aqueles com fibrose significativa (estadio F2 e superior). Os doentes com doença menos grave mas com alto risco de progressão da doença (isto é, com diabetes, SM, aumento persistente da ALT e/ou aumento da necroinflamação) também podem ser candidatos para prevenir a progressão da doença (**B1**)

- Embora não possam ser dadas recomendações sólidas, a pioglitazona (com mais dados de eficácia, mas apenas aprovada na DMT2), ou a vitamina E (com melhor segurança e tolerabilidade a curto prazo) ou a sua combinação poderiam ser utilizadas na EHNA (**B2**)
- A duração ideal da terapêutica é desconhecida; nos doentes com aumento da ALT na linha basal, o tratamento deve ser interrompido se não houver qualquer diminuição das aminotransferases após 6 meses de terapêutica; nos doentes com ALT normal na linha basal, não pode ser dada qualquer recomendação (**C2**)
- As estatinas podem ser seguramente utilizadas para reduzir o colesterol LDL e prevenir o risco cardiovascular, não trazendo qualquer benefício ou risco para a doença hepática. Além disso, os ácidos gordos polinsaturados *n-3* reduzem os lípidos plasmáticos e hepáticos, mas não existem quaisquer dados que apoiem à utilização específica na EHNA (**B1**)

Depleção de ferro

A acumulação de ferro hepático está associada a IR, e a depleção de ferro melhora a IR [138]. Na DHNA, os níveis elevados de ferritina são comuns na presença de saturação de transferrina variável, independentemente dos polimorfismos genéticos da hemocromatose familiar. Nestes doentes, um programa de flebotomias para reduzir as reservas de ferro até quase deficiência de ferro melhorou a pontuação NAS e não provocou agravamento da fibrose [100], mas são necessários mais dados.

DHNA pediátrica

Nas crianças, a dieta e a atividade física reduzem a esteatose, mas não têm influência na balonização, inflamação e fibrose [139]. Embora as várias terapêuticas medicamentosas – tais como a vitamina E e a metformina e os suplementos dietéticos, incluindo os probióticos e o ácido docosahexaenoico – tenham demonstrado efeitos benéficos na balonização, esteatose e inflamação, as lesões fibróticas são refratárias ao tratamento [140], e o prognóstico a longo prazo da EHNA pediátrica permanece mau [141].

Recomendações

- A dieta e a atividade física melhoram a esteatose e a inflamação hepática na DHNA pediátrica, mas não foram demonstrados efeitos benéficos na fibrose. Não existe qualquer terapêutica que tenha demonstrado eficácia nos casos de fibrose na DHNA pediátrica (**B1**)

Cirurgia bariátrica (metabólica)

Nos doentes que não respondem às alterações do estilo de vida e à farmacoterapia, a cirurgia bariátrica é uma opção para perda ponderal e complicações metabólicas, com resultados estáveis a longo prazo [142]. Os marcadores substitutos indicam que a cirurgia bariátrica é eficaz nas lesões hepáticas associadas a DHNA, e também existe evidência inicial de melhorias na necroinflamação e na fibrose [143]. Um recente estudo de coorte com seguimento de 1 ano confirmou que a perda ponderal associada a cirurgia ba-

riátrica eliminou a EHNA em 85% dos doentes e melhorou a fibrose em 34% [144], embora os possíveis benefícios devam ser avaliados com as complicações peri/pós-operatórias. Não existem quaisquer dados sólidos sobre os efeitos comparativos de diferentes procedimentos bariátricos no tecido adiposo hepático.

Recomendações

- Ao melhorar a obesidade e a diabetes, a cirurgia bariátrica (metabólica) reduz o tecido adiposo hepático e, provavelmente, a progressão da EHNA; os dados prospectivos demonstraram melhoria em todas as lesões histológicas da EHNA, incluindo a fibrose (**B1**)

Transplante hepático

A cirrose associada a DHNA está entre as três principais indicações para o transplante hepático. A sobrevida a 3 e a 5 anos não é diferente na DHNA vs. sem DHNA; a DHNA apresenta um maior risco de morte por complicações cardiovasculares e sépsis, ao passo que o risco de rejeição do enxerto é menor [145,146]. A mortalidade global está associada ao IMC e à diabetes, sendo que 50% dos casos com IMC >35 kg/m² morre em 1 ano após transplante [147]. A rejeição do transplante (10% e 45% aos 10 e aos 20 anos, respetivamente [148]) nos doentes obesos está raramente associada a cirrose recorrente da EHNA (≈2%) [146].

Recomendações

- O transplante hepático é um procedimento reconhecido nos doentes com EHNA e doença hepática terminal, com sobrevida global comparável a outras indicações, apesar da maior mortalidade cardiovascular. Os doentes com EHNA, insuficiência hepática e/ou CHC são candidatos a transplante hepático (**A1**)

Conflitos de interesse

Giulio Marchesini não tem nada a declarar sobre financiamento ou conflito de interesses no que diz respeito a este manuscrito. Christopher P. Day declara que foi consultor para a Abbott Laboratories e para a Genfit, e que foi conferencista para a Abbott Laboratories.

Jean-François Dufour declara que foi consultor para a Intercept e para a Genfit.

Ali Canbay não tem nada a declarar sobre financiamento ou conflito de interesses no que diz respeito a este manuscrito.

Valerio Nobili não tem nada a declarar sobre financiamento ou conflito de interesses no que diz respeito a este manuscrito.

Vlad Ratziu declara que foi consultor para a Genfit; adicionalmente, foi membro do Conselho Consultivo para a Gilead, Genfit, Roche e Galmed Pharmaceuticals.

Herbert Tilg não tem nada a declarar sobre financiamento ou conflito de interesses no que diz respeito a este manuscrito.

Michael Roden recebeu apoios à investigação e participou em ensaios clínicos para a Boehringer Ingelheim, Novartis Pharma e Sanofi-Aventis Alemanha. Foi consultor para a GI Dynamics, Sanofi-Aventis Alemanha e Merck & Co. Inc. Foi conferencista para a Eli Lilly e para a Novo Nordisk.

Amalia Gastaldelli recebeu apoios à investigação da Amylin-BMS-AstraZeneca, e foi consultora para a Roche, Eli-Lilly e Sanofi-Aventis.

Hannele Yki-Järvinen não tem nada a declarar sobre financiamento ou conflito de interesses no que diz respeito a este manuscrito. Fritz Schick não tem nada a declarar sobre financiamento ou conflito de interesses no que diz respeito a este manuscrito.

Roberto Vettor declara que recebeu apoios à investigação e que foi consultor para a Sanofi-Aventis. Adicionalmente, foi conferencista para a Novo Nordisk, Sanofi-Aventis e AstraZeneca.

Gema Frühbeck declara que é membro do Conselho Consultivo Científico de Comunicação Global da Obesidade da Novo Nordisk. Lisbeth Mathus-Vliegen não tem nada a declarar sobre financiamento ou conflito de interesses no que diz respeito a este manuscrito.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer aos revisores das presentes Normas de Orientação Clínica pelo seu tempo e revisões críticas: Prof. Dra. Elisabetta Bugianesi (Departamento de Ciências Médicas, Universidade de Turim, Turim, Itália), Prof. Dra. Helena Cortez-Pinto (Unidade de Nutrição e Metabolismo, Faculdade de Medicina de Lisboa, Lisboa, Portugal) e Dr. Stephen Harrison (Brooke Army Medical Center, San Antonio, Texas, EUA).

Dados complementares

Os dados complementares associados a este artigo podem ser consultados *online* em <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>.

Referências

- [1] Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol* 2010;53:372–384.
- [2] Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, Kunz R, Falck-Ytter Y, Alonso-Coello P, et al. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2008;336:924–926.
- [3] Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Croce LS, Brandi G, Sasso F, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med* 2000;132:112–117.
- [4] 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;34:274–285.
- [5] Younossi ZM, Stepanova M, Negro F, Hallaji S, Younossi Y, Lam B, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in lean individuals in the United States. *Medicine* 2012;91:319–327.
- [6] Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A, Vanni E, et al. Risk of severe liver disease in NAFLD with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology* 2008;48:792–798.
- [7] Marchesini G, Mazzotti A. NAFLD incidence and remission: only a matter of weight gain and weight loss? *J Hepatol* 2015;62:15–17.
- [8] 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;55:2005–2023.
- [9] 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.
- [10] 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;68:416–423.
- [11] Gerber L, Otgonsuren M, Mishra A, Escheik C, Biringdinc 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;36:772–781.
- [12] Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:330–344.
- [13] 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;51:1209–1217.
- [14] Liu YL, Patman GL, Leathart JB, Piguet AC, Burt AD, Dufour JF, et al. Carriage of the PNPLA3 rs738409 C >G polymorphism confers an increased risk of non-alcoholic fatty liver disease associated hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2014;61:75–81.
- [15] Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, Leathart JB, et al. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun* 2014;5:4309.
- [16] 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;61:506–514.
- [17] Valenti L, Alisi A, Galmozzi E, Bartoli A, Del Menico B, Alterio A, et al. I148M patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene variant and severity of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010;52:1274–1280.
- [18] Nobili V, Donati B, Panera N, Vongsakulyanon A, Alisi A, Dallapiccola B, et al. A 4-polymorphism risk score predicts steatohepatitis in children with non-alcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58: 632–636.
- [19] Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005;128:1898–1906.
- [20] Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. *Semin Liver Dis* 2012;32:3–13.
- [21] Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313–1321.
- [22] 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;60:565–575.
- [23] 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;53:810–820.
- [24] Ekstedt M, Hagstrom H, Nasr P, Fredrikson M, Stal P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology* 2015;61: 1547–1554.
- [25] Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Unalp A, Behling CE, Lavine JE, et al. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology* 2009;49:809–820.
- [26] Alkhouri N, De Vito R, Alisi A, Yerian L, Lopez R, Feldstein AE, et al. Development and validation of a new histological score for pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2012;57:1312–1318.
- [27] 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;123:745–750.
- [28] 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;39:619–625.
- [29] Ryan CK, Johnson LA, Germin BI, Marcos A. One hundred consecutive hepatic biopsies in the workup of living donors for right lobe liver transplantation. *Liver Transpl* 2002;8:1114–1122.
- [30] Fedchuk L, Nascimbeni F, Pais R, Charlotte F, Housset C, Ratziu V, et al. Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;40: 1209–1222.
- [31] Machado MV, Cortez-Pinto H. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal. *J Hepatol* 2013;58:1007–1019.
- [32] European Association for the Study of the Liver, Asociacion 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;63:237–264.
- [33] 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;60:167–174.

- [34] Kwok R, Tse YK, Wong GL, Ha Y, Lee AU, Ngu MC, et al. Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease—the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:254–269.
- [35] Vuppalanchi R, Jain AK, Deppe R, Yates K, Comerford M, Masuoka HC, et al. Relationship between changes in serum levels of keratin 18 and changes in liver histology in children and adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12:e2121–e2122.
- [36] Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Non-invasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology* 2008;47:455–460.
- [37] McPherson S, Anstee QM, Henderson E, Day CP, Burt AD. Are simple noninvasive scoring systems for fibrosis reliable in patients with NAFLD and normal ALT levels? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013;25:652–658.
- [38] 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;51:454–462.
- [39] Castera L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology* 2010;51:828–835.
- [40] Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan AW, Chermak F, et al. Liver stiffness measurement using XL probe in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1862–1871.
- [41] Petta S, Vanni E, Bugianesi E, Di Marco V, Camma C, Cabibi D, et al. The combination of liver stiffness measurement and NAFLD fibrosis score improves the noninvasive diagnostic accuracy for severe liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2015;35: 1566–1573.
- [42] Vajro P, Lenta S, Socha P, Dhawan A, McKiernan P, Baumann U, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:700–713.
- [43] Nobili V, Svegliati-Baroni G, Alisi A, Miele L, Valenti L, Vajro P. A 360-degree overview of paediatric NAFLD: recent insights. *J Hepatol* 2013;58: 1218–1229.
- [44] Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients* 2013;5:1544–1560.
- [45] Alberti A, Vario A, Ferrari A, Pistis R. Review article: chronic hepatitis C—natural history and cofactors. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:74–78.
- [46] Koliaki C, Szendroedi J, Kaul K, Jelenik T, Nowotny P, Jankowiak F, et al. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with nonalcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. *Cell Metab* 2015;21:739–746.
- [47] Yki-Jarvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014;2:901–910.
- [48] Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412–419.
- [49] McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol* 2015;62:1148–1155.
- [50] Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, Bedossa P, Lebray P, Poynard T, et al. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J Hepatol* 2013;59:550–556.
- [51] Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 2005;42:44–52.
- [52] Frith J, Day CP, Robinson L, Elliott C, Jones DE, Newton JL. Potential strategies to improve uptake of exercise interventions in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2010;52:112–116.
- [53] 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.
- [54] Aron-Wisniewsky J, Minville C, Tordjman J, Levy P, Bouillot JL, Basdevant A, et al. Chronic intermittent hypoxia is a major trigger for non-alcoholic fatty liver disease in morbid obese. *J Hepatol* 2012;56:225–233.
- [55] Gomez-Ambrosi J, Silva C, Galofre JC, Escalada J, Santos S, Millan D, et al. Body mass index classification misses subjects with increased cardiometabolic risk factors related to elevated adiposity. *Int J Obes (Lond)* 2012;36:286–294.
- [56] Chang Y, Ryu S, Suh BS, Yun KE, Kim CW, Cho SI. Impact of BMI on the incidence of metabolic abnormalities in metabolically healthy men. *Int J Obes (Lond)* 2012;36:1187–1194.
- [57] Gomez-Ambrosi J, Catalan V, Rodriguez A, Andrada P, Ramirez B, Ibanez P, et al. Increased cardiometabolic risk factors and inflammation in adipose tissue in obese subjects classified as metabolically healthy. *Diabetes Care* 2014;37:2813–2821.
- [58] Ghouri N, Preiss D, Sattar N. Liver enzymes, nonalcoholic fatty liver disease, and incident cardiovascular disease: a narrative review and clinical perspective of prospective data. *Hepatology* 2010;52:1156–1161.
- [59] Gastaldelli A, Cusi K, Pettiti M, Hardies J, Miyazaki Y, Berria R, et al. Relationship between hepatic/visceral fat and hepatic insulin resistance in nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Gastroenterology* 2007;133:496–506.
- [60] Kotronen A, Juurinen L, Hakkarainen A, Westerbacka J, Corner A, Bergholm R, et al. Liver fat is increased in type 2 diabetic patients and underestimated by serum alanine aminotransferase compared with equally obese nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 2008;31:165–169.
- [61] Loomba R, Abraham M, Unalp A, Wilson L, Lavine J, Doo E, et al. Association between diabetes, family history of diabetes, and risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Hepatology* 2012;56:943–951.
- [62] Armstrong MJ, Adams LA, Canbay A, Syn WK. Extrahepatic complications of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2014;59:1174–1197.
- [63] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes—2014. *Diabetes Care* 2014;37:S14–S80.
- [64] Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, Orsak B, Finch J, Chang Z, Kochunov VG, et al. Prevalence of prediabetes and diabetes and metabolic profile of patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Diabetes Care* 2012;35: 873–878.
- [65] 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.
- [66] Llauro G, Sevastianova K, Sadevirta S, Hakkarainen A, Lundbom N, Orholm-Melander M, et al. Liver fat content and hepatic insulin sensitivity in overweight patients with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:607–616.
- [67] Anderwald C, Bernroider E, Krssak M, Stingl H, Brehm A, Bischof MG, et al. Effects of insulin treatment in type 2 diabetic patients on intracellular lipid content in liver and skeletal muscle. *Diabetes* 2002;51:3025–3032.
- [68] Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokopy 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;13:643–654, e641–e649; quiz e639–e640.
- [69] Haffadottir S, Jonasson JG, Norlund H, Einarsdottir 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.
- [70] Kim D, Kim WR, Kim HJ, Therneau TM. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States. *Hepatology* 2013;57:1357–1365.
- [71] Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, Deutsch R, Nievergelt C, Schork NJ, et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;42:641–649.
- [72] Oni ET, Agatston AS, Blaha MJ, Fialkow J, Cury R, Sposito A, et al. A systematic review: burden and severity of subclinical cardiovascular disease among those with nonalcoholic fatty liver; should we care? *Atherosclerosis* 2013;230:258–267.
- [73] Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2010;363:1341–1350.
- [74] Bhatia LS, Curzen NP, Calder PC, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: a new and important cardiovascular risk factor? *Eur Heart J* 2012;33:1190–1200.
- [75] Calori G, Lattuada G, Ragogna F, Garancini MP, Crosignani P, Villa M, et al. Fatty liver index and mortality: the Cremona study in the 15th year of follow-up. *Hepatology* 2011;54:145–152.
- [76] Pacifico L, Chiesa C, Anania C, De Merulis A, Osborn JF, Romaggioli S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and the heart in children and adolescents. *World J Gastroenterol* 2014;20:9055–9071.
- [77] 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.

- [78] 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: 2188–2195.
- [79] Musso G, Gambino R, Tabibian JH, Ekstedt M, Kechagias S, Hamaguchi M, et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med* 2014;11: e1001680.
- [80] Targher G, Bertolini L, Chonchol M, Rodella S, Zoppini G, Lippi G, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 2010;53: 1341–1348.
- [81] Kim NH, Park J, Kim SH, Kim YH, Kim DH, Cho GY, et al. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and subclinical cardiovascular changes in the general population. *Heart* 2014;100:938–943.
- [82] Hazlehurst JM, Tomlinson JW. Non-alcoholic fatty liver disease in common endocrine disorders. *Eur J Endocrinol* 2013;169:R27–R37.
- [83] 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;39:770–778.
- [84] Bugianesi E, Gentilecore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1082–1090.
- [85] Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2006;355:2297–2307.
- [86] Zelber-Sagi S, Kessler A, Brazowsky E, Webb M, Lurie Y, Santo M, et al. A double-blind randomized placebo-controlled trial of orlistat for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:639–644.
- [87] 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 non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1537–1543.
- [88] Ratzl V, Giral P, Jacqueminet S, Charlotte F, Hartemann-Heurtier A, Serfaty L, et al. Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. *Gastroenterology* 2008;135: 100–110.
- [89] Aithal GP, Thomas JA, Kaye PV, Lawson A, Ryder SD, Spendlove I, et al. Randomized, placebo-controlled trial of pioglitazone in nondiabetic subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2008;135: 1176–1184.
- [90] Haukeland JW, Konopski Z, Eggesbo HB, von Volkmann HL, Raschpichler G, Bjor K, et al. Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scand J Gastroenterol* 2009;44:853–860.
- [91] Harrison SA, Fecht W, Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA. Orlistat for overweight subjects with nonalcoholic steatohepatitis: a randomized, prospective trial. *Hepatology* 2009;49:80–86.
- [92] 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;2:157–163.
- [93] 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;51:121–129.
- [94] Ratzl V, Charlotte F, Bernhardt C, Giral P, Halbron M, Lenaour G, et al. Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis: results of the fatty liver improvement by rosiglitazone therapy (FLIRT 2) extension trial. *Hepatology* 2010;51:445–453.
- [95] 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;362:1675–1685.
- [96] 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;52:472–479.
- [97] Zein CO, Yerian LM, Gogate P, Lopez R, Kirwan JP, Feldstein AE, et al. Pentoxifylline improves nonalcoholic steatohepatitis: a randomized placebo-controlled trial. *Hepatology* 2011;54:1610–1619.
- [98] Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA* 2011;305:1659–1668.
- [99] 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;385:956–965.
- [100] 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;20:3002–3010.
- [101] Takeshita Y, Takamura T, Honda M, Kita Y, Zen Y, Kato K, et al. The effects of ezetimibe on non-alcoholic fatty liver disease and glucose metabolism: a randomised controlled trial. *Diabetologia* 2014;57:878–890.
- [102] Sanyal AJ, Abdelmalek MF, Suzuki A, Cummings OW, Chojkier MEPE-A Study Group. No significant effects of ethyl-eicosapentanoic acid on histologic features of nonalcoholic steatohepatitis in a phase 2 trial. *Gastroenterology* 2014;147:e371.
- [103] Loomba R, Sirlin CB, Ang B, Bettencourt R, Jain R, Salotti J, et al. Ezetimibe for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: assessment by novel magnetic resonance imaging and magnetic resonance elastography in a randomized trial (MOZART trial). *Hepatology* 2015;61:1239–1250.
- [104] Argo CK, Patrie JT, Lackner C, Henry TD, de Lange EE, Weltman AL, et al. Effects of n-3 fish oil on metabolic and histological parameters in NASH: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Hepatol* 2015;62:190–197.
- [105] 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, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet* 2015, [ePub Nov 19].
- [106] Zelber-Sagi S, Ratzl V, Oren R. Nutrition and physical activity in NAFLD: an overview of the epidemiological evidence. *World J Gastroenterol* 2011;17:3377–3389.
- [107] Boden G. High- or low-carbohydrate diets: which is better for weight loss, insulin resistance, and fatty livers? *Gastroenterology* 2009;136: 1490–1492.
- [108] Lazo M, Solga SF, Horska A, Bonekamp S, Diehl AM, Brancati FL, et al. Effect of a 12-month intensive lifestyle intervention on hepatic steatosis in adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2010;33:2156–2163.
- [109] Perreault L, Pan Q, Mather KJ, Watson KE, Hamman RF, Kahn SE. Effect of regression from prediabetes to normal glucose regulation on long-term reduction in diabetes risk: results from the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *Lancet* 2012;379:2243–2251.
- [110] Thoma C, Day CP, Trenell MI. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. *J Hepatol* 2012;56:255–266.
- [111] Ryan MC, Itsiopoulos C, Thodis T, Ward G, Trost N, Hofferberth S, et al. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2013;59:138–143.
- [112] Liangpunsakul S, Chalasani N. What should we recommend to our patients with NAFLD regarding alcohol use? *Am J Gastroenterol* 2012;107:976–978.
- [113] Kwon HK, Greenon JK, Conjeevaram HS. Effect of lifetime alcohol consumption on the histological severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2014;34:129–135.
- [114] Dunn W, Sanyal AJ, Brunt EM, Unalp-Arida A, Donohue M, McCullough AJ, et al. Modest alcohol consumption is associated with decreased prevalence of steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Hepatol* 2012;57:384–391.
- [115] Ascha MS, Hanounieh IA, Lopez R, Tamimi TA, Feldstein AF, Zein NN. The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010;51:1972–1978.
- [116] Saab S, Mallam D, Cox 2nd GA, Tong MJ. Impact of coffee on liver diseases: a systematic review. *Liver Int* 2014;34:495–504.
- [117] Keating SE, Hackett DA, George J, Johnson NA. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2012;57:157–166.
- [118] Bacchi E, Negri C, Targher G, Faccioli N, Lanza M, Zoppini G, et al. Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease (the RAED2 Randomized Trial). *Hepatology* 2013;58:1287–1295.
- [119] 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;54:603–608.
- [120] Vilar-Gomez E, Martinez-Perez 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, e5; quiz e14–e15.

- [121] Rodriguez B, Torres DM, Harrison SA. Physical activity: an essential component of lifestyle modification in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9:726–731.
- [122] Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of non-alcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 2005;42:132–138.
- [123] Sanyal AJ, Friedman SL, McCullough AJ, Dimick-Santos L American Association for the Study of Liver Diseases United States Food and Drug Administration. Challenges and opportunities in drug and biomarker development for nonalcoholic steatohepatitis: findings and recommendations from an American Association for the Study of Liver Diseases-U.S. Food and Drug Administration Joint Workshop. *Hepatology* 2015;61:1392–1405.
- [124] Younossi ZM, Reyes MJ, Mishra A, Mehta R, Henry L. Systematic review with meta-analysis: non-alcoholic steatohepatitis – A case for personalised treatment based on pathogenic targets. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:3–14.
- [125] Mazzella N, Ricciardi LM, Mazzotti A, Marchesini G. The role of medications for the management of patients with NAFLD. *Clin Liver Dis* 2014;18:73–89.
- [126] Ratziu V, Goodman Z, Sanyal A. Current efforts and trends in the treatment of NASH. *J Hepatol* 2015;62:S65–S75.
- [127] Tiikkainen M, Hakkinen AM, Korshennikova E, Nyman T, Makimattila S, Yki-Jarvinen H. Effects of rosiglitazone and metformin on liver fat content, hepatic insulin resistance, insulin clearance, and gene expression in adipose tissue in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2004;53: 2169–2176.
- [128] Bhalla K, Hwang BJ, Dewi RE, Twaddell W, Goloubeva OG, Wong KK, et al. Metformin prevents liver tumorigenesis by inhibiting pathways driving hepatic lipogenesis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012;5:544–552.
- [129] Zhang ZJ, Zheng ZJ, Shi R, Su Q, Jiang Q, Kip KE. Metformin for liver cancer prevention in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:2347–2353.
- [130] Vilsboll T, Christensen M, Junker AE, Knop FK, Gluud LL. Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on weight loss: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ* 2012;344:d7771.
- [131] Hoofnagle JH, Van Natta ML, Kleiner DE, Clark JM, Kowdley KV, Loomba R, et al. Vitamin E and changes in serum alanine aminotransferase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:134–143.
- [132] Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007;297: 842–857.
- [133] Schurks M, Glynn RJ, Rist PM, Tzourio C, Kurth T. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2010;341:c5702.
- [134] Klein EA, Thompson Jr IM, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA* 2011;306:1549–1556.
- [135] Mudaliar S, Henry RR, Sanyal AJ, Morrow L, Marshall HU, Kipnes M, et al. Efficacy and safety of the farnesoid X receptor agonist obeticholic acid in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2013;145:e571.
- [136] Parker HM, Johnson NA, Burdon CA, Cohn JS, O'Connor HT, George J. Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2012;56:944–951.
- [137] 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;63:705–712.
- [138] 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;102:1251–1258.
- [139] Nobili V, Alisi A, Raponi M. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: preventive and therapeutic value of lifestyle intervention. *World J Gastroenterol* 2009;15:6017–6022.
- [140] Mitchel EB, Lavine JE. Review article: the management of paediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;40: 1155–1170.
- [141] Feldstein AE, Charatcharoenwithaya P, Treeprasertsuk S, Benson JT, Enders FB, Angulo P. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years. *Gut* 2009;58:1538–1544.
- [142] Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Brethauer SA, Navaneethan SD, et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes–3- year outcomes. *N Engl J Med* 2014;370:2002–2013.
- [143] Caiazzo R, Lassailly G, Leteurtre E, Baud G, Verkindt H, Raverdy V, et al. Roux-en-Y gastric bypass versus adjustable gastric banding to reduce non-alcoholic fatty liver disease: a 5-year controlled longitudinal study. *Ann Surg* 2014;260:893–898, Discussion 898–899.
- [144] 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;149:377–388.
- [145] Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology* 2011;141: 1249–1253.
- [146] Wang X, Li J, Riaz DR, Shi G, Liu C, Dai Y. Outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12:e391.
- [147] Heuer M, Kaiser GM, Kahraman A, Banysch M, Saner FH, Mathe Z, et al. Liver transplantation in nonalcoholic steatohepatitis is associated with high mortality and post-transplant complications: a single-center experience. *Digestion* 2012;86:107–113.
- [148] Sebagh M, Samuel D, Antonini TM, Coilly A, Degli Esposti D, Roche B, et al. Twenty-year protocol liver biopsies: invasive but useful for the management of liver recipients. *J Hepatol* 2012;56:840–847.