

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E

HEPATOLOGIA

Dissertação de Mestrado

Elastografia por ressonância magnética na doença hepática gordurosa não-alcoólica:
avaliando pontos de corte de *NAFLD Fibrosis Score* e *Fibrosis-4 Score* para sua
recomendação na prática clínica

Louise Torres

PORTO ALEGRE, BRASIL

2021

Louise Torres

Elastografia por ressonância magnética na doença hepática gordurosa não-alcoólica:
avaliando pontos de corte de *NAFLD Fibrosis Score* e *Fibrosis-4 Score* para sua
recomendação na prática clínica

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-
graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como
requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Mário Reis Álvares-da-Silva

PORTO ALEGRE, BRASIL

2021

CIP - Catalogação na Publicação

Torres, Louise

Elastografia por ressonância magnética na doença hepática gordurosa não-alcoólica: avaliando pontos de corte de NAFLD Fibrosis Score e Fibrosis-4 Score para sua recomendação na prática clínica / Louise Torres.

-- 2021.

78 f.

Orientador: Mário Reis Álvares-da-Silva.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Doença hepática gordurosa não alcoólica. 2. Fibrose hepática. 3. NAFLD Fibrosis Score. 4. Fibrosis-4 Score. 5. Elastografia por ressonância magnética. I. Álvares-da-Silva, Mário Reis, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Nós somos o que fazemos repetidamente. Excelência, portanto, não é um ato,

mas sim um hábito.

Aristóteles

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, pois tudo que sou devo a vocês. Sou grata pelo incentivo diário e por nunca terem deixado faltar desafios para que eu pudesse aprender a me superar. Vocês são fundamentais na conquista dos meus sonhos.

Agradeço ao meu companheiro de muitos anos, Vitor B. Heinrich, que me apoiou nos momentos mais difíceis desta jornada.

Ao Professor Dr. Mário Reis Álvares-da-Silva, meu orientador, obrigada pela oportunidade em trabalhar com alguém tão notável, por acreditar em minha capacidade e por me auxiliar neste desafio.

Agradeço à minha preceptora de radiologia abdominal do Hospital Moinhos de Vento e grande parceira neste projeto, Alice Schuch, por fazer este trabalho possível, mesmo quando os maiores desafios surgiam. Obrigada por não deixar eu desanimar frente às dificuldades, sempre me passando sua energia e força incríveis. A você, minha admiração e amizade.

Agradeço aos meus colegas da residência médica em Radiologia e Diagnóstico por Imagem do Hospital Moinhos de Vento por todos estes anos de convivência e companheirismo. Agradeço, em especial, aos colegas Rodrigo Bartels, Gabriela S. Galvão, Jonatas F. P. dos Santos e Raphael G. Rodeghiero pela ajuda durante a fase de coleta de dados. Cada um teve uma participação especial na realização deste projeto.

Agradeço à física médica do hospital, Bruna B. Valentini, não só pela participação essencial que teve no pós-processamento de cada exame, mas por toda a ajuda, que foi muito além da parte técnica. Obrigada também pela sua amizade durante estes anos.

Agradeço aos gastroenterologistas, endocrinologistas, cardiologistas, ginecologistas e a todos os colegas médicos que encaminharam seus pacientes para participar deste estudo, o que foi, além de essencial na execução da coleta de dados, um ato de confiança.

Aos pacientes, não tenho palavras para agradecer os minutos de conversa antes de cada exame! Vocês me proporcionaram o maior ganho, pessoalmente falando, na execução deste projeto. Há três anos na radiologia, acabei por me afastar da relação médico-paciente, como esperado na nossa profissão, mas vocês me ensinaram a ver em cada exame uma pessoa, com suas crenças e preocupações, e a sofrer junto em cada resultado alterado.

Agradeço ao Hospital Moinhos de Vento (HMV) por acreditar na pesquisa e proporcionar o desenvolvimento deste estudo.

Enfim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste estudo.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
LISTA DE ABREVIATURAS	5
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE QUADROS	8
INTRODUÇÃO:	9
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica	12
Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica e Fibrose	18
Avaliação não-invasiva da Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica	19
Avaliação não-invasiva de fibrose hepática	21
JUSTIFICATIVA	27
QUESTÕES DE PESQUISA	28
HIPÓTESES	29
OBJETIVOS	30
Objetivo geral.....	30
Objetivos específicos	30
ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS	31
CONCLUSÕES	56
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	72
Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	72
Questionário aplicado ao paciente	76

RESUMO

Introdução: A doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) é a principal causa de hepatopatia crônica, afetando de 20 a 30% da população mundial. A fibrose hepática é importante marcador prognóstico da doença, assim como da indicação de seu tratamento. A biópsia, embora padrão na avaliação da fibrose, é um procedimento invasivo, com riscos inerentes. Assim, métodos não-invasivos (MNI) foram desenvolvidos e são úteis na DHGNA, como o *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Fibrosis Score* (NFS) o *Fibrosis-4 Score* (FIB-4), aplicáveis de forma sequencial com outros métodos, como a elastografia. A elastografia por ressonância magnética (ERM) tem a maior acurácia dentre os MNI para avaliar fibrose, entretanto não está amplamente disponível e é cara. Está indicada quando NFS e FIB-4 não excluem fibrose avançada, mas não raro a ERM é normal nesses casos. Considerando a prevalência da DGHNA e o custo da ERM, avaliar novos pontos de corte pode ser útil. **Objetivo:** Determinar os pontos de corte do NFS e do FIB-4 que melhor identificam pacientes com DHGNA em risco de fibrose hepática, desde os estágios mais iniciais, utilizando como padrão a ERM. **Métodos:** Estudo unicêntrico, transversal e prospectivo em pacientes adultos submetidos à ERM para avaliar DHGNA. Foi realizada a avaliação de esteatose e fibrose hepáticas por imagem, além do cálculo do NFS e FIB-4, comparando-os aos resultados obtidos pela ERM. **Resultados:** Foram incluídos 183 pacientes, 50,3% mulheres, com média de idade de $52,9 \pm 12,4$ anos. Dos pacientes incluídos, 60,1% apresentavam esteatose leve, 19,7% moderada e 20,2% acentuada. Além disso, 11,5% apresentavam fibrose hepática \geq F1 e 5,5% fibrose avançada (F3-F4) pela ERM. Curvas ROC foram desenvolvidas para NFS e FIB-4, com áreas sob a curva ROC (AUROC, IC de 95%) de 0,938 (0,891–0,984) e 0,948 (0,892–1,000), respectivamente. Novos pontos de corte foram escolhidos para NFS [-0,835 (S = 100% e E = 70%)] e FIB-4 [1,505 (S = 85% e E = 86%)], com maior

especificidade que os pontos de corte atualmente utilizados para a indicação de ERM (51% e 76%, respectivamente). Quando utilizados em conjunto, a acurácia dos novos pontos de corte foi de 91%. **Conclusão:** NFS e FIB-4 são ferramentas úteis para indicar o prosseguimento da avaliação hepática com ERM na DHGNA. Este estudo sugere novos pontos de corte com maior especificidade e excelente sensibilidade para a seleção de pacientes que teriam benefício na realização deste exame, ainda pouco disponível na prática clínica.

Palavras-chave: Esteatose; Doença Hepática Gordurosa não-alcoólica; Fibrose hepática; Técnicas de Imagem por Elasticidade; Biomarcador.

ABSTRACT

Introduction: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the main cause of chronic liver disease, affecting 20-30% of the world population. Liver fibrosis is an important prognostic marker of the disease, as well as the indication for its treatment. Biopsy, although standard in the assessment of fibrosis, is an invasive procedure with inherent risks. Thus, non-invasive methods (NIM) were developed and are useful in NAFLD, such as the Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Fibrosis Score (NFS) or Fibrosis-4 Score (FIB-4), which can be applied sequentially with other methods, such as the elastography. Magnetic resonance elastography (MRE) has the highest accuracy among the NIMs for evaluating fibrosis, however, it is not widely available and is expensive. It is indicated when NFS and FIB-4 do not exclude advanced fibrosis, but MRE is often normal in these cases. Considering the prevalence of NAFLD and the cost of MRE, evaluating new cutoff points may be useful. **Objective:** To determine the NFS and FIB-4 cutoff points that best identify NAFLD patients at risk for liver fibrosis, from the earliest stages, using MRE as a standard. **Methods:** Single-center, cross-sectional, prospective study in adult patients undergoing MRE to assess NAFLD. The evaluation of hepatic steatosis and fibrosis was performed by imaging, in addition to the calculation of the NFS and FIB-4, comparing them to the results obtained by the MRE. **Results:** 183 patients were included, 50.3% women, with a mean age of 52.9 ± 12.4 years. Of the patients included, 60.1% had mild steatosis, 19.7% moderate and 20.2% severe. In addition, 11.5% had liver fibrosis \geq F1 and 5.5% advanced fibrosis (F3-F4) by MRE. ROC curves were developed for NFS and FIB-4, with areas under the ROC curve (AUROC, 95% CI) of 0.938 (0.891–0.984) and 0.948 (0.892–1,000), respectively. New cut-off points were chosen for NFS [-0.835 (S = 100% and E = 70%)] and FIB-4 [1.505 (S = 85% and E = 86%)], with greater specificity than the cut-off points currently used for the indication of MRE (51% and 76%,

respectively). When used together, the accuracy of the new cutoff points was 91%.

Conclusion: NFS and FIB-4 are useful tools to indicate the continuation of liver evaluation with MRE in NAFLD. This study suggests new cutoff points with greater specificity and excellent sensitivity for selecting patients who would benefit from this test, which is still not widely available in clinical practice.

Keywords: Steatosis; Nonalcoholic Fatty Liver Disease; Liver Cirrhosis; Elasticity Imaging Techniques; Biomarker.

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT: alanina aminotransferase

APRI: do inglês, *aspartate aminotransferase to platelets ratio*

AST: aspartato aminotransferase

AUROC: área sob a curva

CAP: parâmetros de atenuação controlada

CHC: carcinoma hepatocelular

DCV: doença cardiovascular

DHGNA: doença hepática gordurosa não-alcoólica

DM2: diabetes melito tipo 2

EHNA: Esteato-hepatite não-alcoólica

ELF: do inglês, *enhanced liver fibrosis*

ERM: elastografia por ressonância magnética

FIB-4: do inglês, *Fibrosis-4 score*

GRE: gradiente-eco

HDL: do inglês, *high-density lipoprotein*

HFS: do inglês, *hepamet fibrosis score*

IMC: índice de massa corporal

kPa: quilopascal

LDL: do inglês, *low-density lipoprotein*

LIC: do inglês, *liver iron concentration*

MAFLD: do inglês, *metabolic associated fatty liver disease*

MNI: métodos não-invasivos

NFS: do inglês, *non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score*

PACS: sistema de comunicação e arquivamento de imagens

PDFF: fração de gordura por densidade de prótons

RM: ressonância magnética

RMMF: ressonância magnética multiparamétrica do fígado

RM-PDFF: ressonância magnética com quantificação de gordura por PDFF

ROI: região de interesse

SM: síndrome metabólica

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espectro da doença hepática gordurosa não-alcoólica.

Figura 2: Critérios diagnósticos de MAFLD.

Figura 3: Avaliação inicial e estratificação de risco de fibrose hepática para pacientes com DHGNA.

Figura 4: Algoritmo proposto para o rastreio de pacientes com DM2 para DHGNA.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Critérios diagnósticos de Síndrome Metabólica.

INTRODUÇÃO:

A doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) é definida como a presença de esteatose hepática, detectada por histologia ou imagem, na ausência de consumo significativo de álcool, outras hepatopatias ou uso de drogas esteatogênicas, sendo confirmada histologicamente quando há deposição de gordura em mais de 5% de hepatócitos (1,2).

Considerada atualmente uma epidemia mundial, é a doença hepática crônica mais frequentemente diagnosticada, afetando de 20 a 30% da população geral (1,3). É previsto o aumento exponencial de sua prevalência nas próximas décadas, juntamente com a epidemia global de obesidade, diabetes melito tipo 2 (DM2) e sedentarismo (4). A DHGNA é considerada uma síndrome clínica que abrange desde esteatose simples até esteato-hepatite não-alcoólica (EHNA), com potencial de evolução para fibrose, cirrose e suas complicações, como o carcinoma hepatocelular (CHC) (4–7).

A presença de fibrose hepática é o principal preditor de morbimortalidade na DHGNA, com aumento do risco de complicações cardiovasculares e de doença hepática grave (8,9). Desta forma, a estimativa do estágio de fibrose é fundamental no manejo desses pacientes, sendo um ponto chave no estabelecimento do prognóstico da DHGNA. A biópsia hepática ainda é considerada o padrão para o diagnóstico e estadiamento de fibrose, no entanto, é um procedimento de natureza invasiva, sujeito a erros de amostragem, variabilidade interobservador e potenciais complicações (10,11).

Por esse motivo, ferramentas não-invasivas têm sido desenvolvidas para a avaliação da fibrose hepática na DHGNA (10), como testes baseados em parâmetros clínicos e laboratoriais, como o *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Fibrosis Score* (NFS) o

Fibrosis-4 Score (FIB-4) (12,13), bem como em características físicas ou de imagem do fígado (14–16), como as técnicas de elastografia.

Em relação aos escores clínicos, o NFS e o FIB-4 demonstraram capacidade de estratificar os pacientes de risco para fibrose hepática, sendo úteis para excluir casos de fibrose avançada (F3-F4) (17), além de melhor desempenho diagnóstico para detecção da mesma em relação aos outros testes não invasivos (18,19). Além disso, são indicados pelas diretrizes atuais na avaliação inicial dos pacientes com DHGNA devido à sua custo-efetividade (20,21). Um estudo avaliou a utilidade dos testes não invasivos em população latino-americana com DHGNA, usando a biópsia como padrão, mostrando que a AUROC para detecção de fibrose significativa foi maior para FIB-4 e *Hepamet Fibrosis Score* (HFS), um novo escore descrito mais recentemente, do que para NFS (22).

Em relação aos exames de imagem, a elastografia transitória (Fibroscan®) é a técnica mais comumente utilizada na prática clínica para avaliação da fibrose hepática (23), porém é menos precisa para estágios intermediários (24) e apresenta limitações relacionadas à distribuição central da gordura corporal e obesidade (25,26), frequentes nos pacientes com DHGNA, assim como relacionadas à presença de colestase, inflamação e congestão hepáticas e à experiência do examinador (27,28). Técnicas baseadas em ultrassom apresentam precisão comparável ao Fibroscan® (10), porém também apresentam falhas relacionadas ao sobrepeso e obesidade, e ainda são necessários mais estudos para melhor definição dos pontos de corte a serem utilizados, principalmente entre os diferentes equipamentos disponíveis, e não existem dados suficientes sobre critério de qualidade, fatores de confusão ou precisão durante o seguimento dos pacientes (23). A ressonância magnética (RM) convencional possui um papel limitado no diagnóstico da fibrose hepática em estágios iniciais, uma vez que as alterações morfológicas do fígado se manifestam apenas em estágios avançados da doença hepática

crônica (23,29). Neste contexto, a elastografia por ressonância magnética (ERM) tem ganhado papel de destaque na avaliação da fibrose hepática, inclusive em graus leves, sendo atualmente o método não invasivo de maior acurácia para a detecção e o estadiamento de fibrose, com excelente concordância intra e interobservador (14,30,31). De fato, tem sido usada com frequência como substituto da biópsia hepática em estudos de fase II que avaliam novas drogas para o tratamento da esteato-hepatite (32). No entanto, este método ainda não está amplamente disponível na maioria dos centros e tem alto custo, sendo inviável realizar a avaliação de fibrose hepática em todos os pacientes com DHGNA (10).

Considerando o aumento da morbimortalidade associado à presença de fibrose hepática em pacientes com DHGNA, sua identificação e estadiamento desde os estágios mais precoces tem grande impacto prognóstico. Neste cenário, o presente estudo tem como objetivo determinar os pontos de corte do NFS e do FIB-4 que melhor identifiquem pacientes com DHGNA em risco de fibrose hepática desde estágios iniciais (igual ou superior a F1), utilizando com padrão os estágios de fibrose estimados através da ERM, de modo a guiar a indicação clínica para o prosseguimento da investigação através da avaliação não-invasiva de fibrose hepática por ERM.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica

A DHGNA é um problema de saúde pública, como recentemente discutido em um estudo publicado por Lazarus et al, e devem ser estimuladas políticas públicas para sua detecção precoce (33). Isto se torna ainda mais importante quando se estima que o aquecimento global vai aumentar os casos de DHGNA devido à insegurança alimentar (34), sendo que a população latino-americana tem especial risco para o desenvolvimento da doença (21).

A DHGNA é considerada uma síndrome clínica que abrange desde esteatose isolada, definida como a deposição de gordura em mais de 5% de hepatócitos sem evidência de lesão hepatocelular, até EHNA, definida como a presença de esteatose associada à balonização dos hepatócitos e à inflamação lobular, com potencial de evolução para fibrose, cirrose e suas complicações, como o CHC (4–6).

Nos estádios iniciais da doença, pode haver inflamação crônica e reparação compensatória do tecido, com posterior acúmulo de colágeno e formação de fibrose e/ou cirrose (35,36) (Figura 1). A cirrose está associada à perda progressiva da função orgânica e constitui a base para o desenvolvimento do CHC, embora esta neoplasia possa ocorrer em fígado não cirrótico (37). A DHGNA é assintomática até o surgimento de complicações, em seu estágio final, quando as alterações podem já ser irreversíveis, sendo o transplante hepático a única opção terapêutica (36,38). Assim, por ser uma importante causa de aumento das taxas de morbimortalidade relacionada ao fígado (39), a identificação dos fatores de risco, diagnóstico precoce e intervenções são fundamentais para o manejo clínico da doença (7).

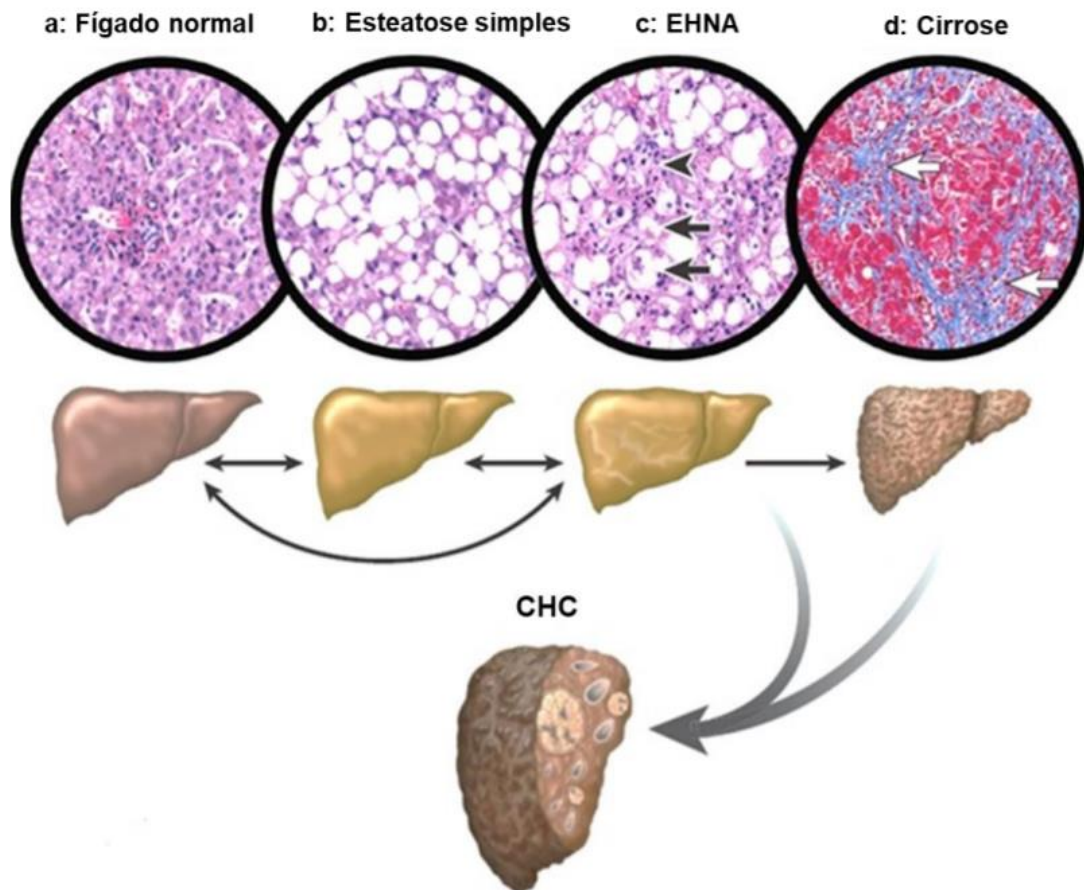


Figura 1: Espectro da doença hepática gordurosa não-alcoólica. As lesões se iniciam geralmente com um quadro de esteatose hepática (b), podendo progredir para EHNA, com infiltrado inflamatório e balonização (setas pretas) (c), progredindo para cirrose, quando há deposição das fibras de colágeno nos espaços entre as células hepáticas (setas brancas) (d) e CHC. A doença pode progredir ou regredir conforme a ilustração das setas no painel. Fonte: Arab et al. (7).

Do ponto de vista etiológico, DHGNA e EHNA se desenvolvem devido a uma interação complexa entre epigenética, genética e fatores ambientais, resultando na alteração da homeostase lipídica, o que leva ao acúmulo hepatocelular de triglicerídeos e outras espécies de lipídeos (diacilglicerol, ácidos graxos saturados, colesterol livre e ceramidas, entre outros) (40), sendo que a obesidade, resistência insulínica, DM2 e dislipidemia são

consideradas as causas primárias para o desenvolvimento desta doença (35,41,42). Já o aparecimento secundário, inclui a exposição a xenobióticos, nutrição parenteral prolongada e algumas intervenções cirúrgicas, como transplante hepático e derivação jejunoileal (41,43,44).

Considerada atualmente uma epidemia mundial, é a doença hepática crônica mais frequentemente diagnosticada, afetando 20-30% da população geral (1,3), com uma distribuição mundial variada, dependendo da população estudada e do método diagnóstico empregado (36,42), sendo sua prevalência na América do Sul estimada em 30% (3). A DHGNA ocorre em indivíduos de todas as idades, entretanto, é mais comum nos adultos e tende a aumentar com a idade (42,44). Também há uma alta prevalência na população obesa, tendo sido observado que em indivíduos com peso normal a prevalência de DHGNA é de aproximadamente 16%, aumentando para 43 a 60% em pacientes com DM2 e para 91% em pacientes obesos submetidos à cirurgia bariátrica (42). Por esse motivo, a DHGNA tem sido considerada uma manifestação hepática da síndrome metabólica (SM), a qual ocorre quando três dos cinco critérios descritos no Quadro 1 estão presentes (43), além de ser considerada um fator de risco independente para o desenvolvimento de doença cardiovascular (DCV) (38,43,45).

Quadro 1. Critérios diagnósticos da SM. Abreviaturas: DM: diabetes melito, HDL: lipoproteína de alta densidade. Fonte: adaptado de Azzam et al. (2015) (43).

Critérios	Definição
Glicemia de jejum alterada	≥ 100 mg/dl ou diagnóstico prévio de diabetes melito
Triglicerídeos	≥ 150 mg/dl ou tratamento específico para essa anormalidade
HDL	< 40 mg/dl para homens/ < 50 mg/dl para mulheres ou tratamento específico para essa anormalidade
Hipertensão arterial	Pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg, pressão arterial diastólica ≥ 85 mmHg ou tratamento prévio para diagnóstico de hipertensão
Obesidade central	Circunferência dependente da etnia

Não obstante, existe a previsão de um aumento exponencial de sua prevalência nas próximas décadas, juntamente com a epidemia global de obesidade, DM2 e sedentarismo (4), comorbidades frequentemente associadas (4), com potencial de se tornar a principal indicação para transplante de fígado em um futuro próximo (46).

O tratamento da DHGNA ainda é limitado. No entanto, perda de peso, controle dietético e atividade física são passos fundamentais no seu tratamento (35,42), uma vez que, na grande maioria dos casos, a esteatose hepática pode ser reversível se o seu fator causal for eliminado. Um estudo publicado em 2015 mostrou que a perda de peso superior a 7 ou a 10% é suficiente para a resolução da doença, sendo esta meta habitualmente considerada em seu tratamento (47). Ainda, há dados suficientes mostrando que a cirurgia bariátrica é efetiva no controle da doença (28,48,49). A Associação Latino-Americana para o Estudo do Fígado (ALEH) recomenda em seu consenso a modificação de estilo de vida, com perda de 7 a 10% do peso corporal, e a cirurgia bariátrica nos pacientes obesos

que não conseguem atingir esses objetivos. Pioglitazona e/ou vitamina E estão indicados em casos selecionados de EHNA demonstrada à biópsia. No momento, vários esquemas terapêuticos estão sendo testados em diferentes fases (32), o que faz com que sejam esperadas novidades até o final desta década.

O novo conceito de doença hepática associada à disfunção metabólica

Recentemente, uma nova proposta para modificação da sigla DHGNA para doença hepática gordurosa associada à disfunção metabólica (MAFLD) foi sugerida, de modo a refletir com mais precisão sua patogênese e evitar o uso de uma definição nosológica baseada em critérios negativos (50) . Os critérios diagnósticos da MAFLD incluem presença de esteatose hepática associada a fatores de risco metabólicos, como DM2, obesidade ou disfunção metabólica (presença de pelo menos 2 dos seguintes critérios: hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dl), lipoproteína de alta densidade (HDL) (≤ 40 mg /dl), pressão arterial elevada ($\geq 130 / 85$ mmHg), aumento da circunferência abdominal ($\geq 102 / 88$ cm em homens e mulheres brancos ou $\geq 90 / 80$ cm em homens e mulheres asiáticos), pré-diabetes, HOMA-IR elevado ($\geq 2,5$) ou proteína C reativa de alta sensibilidade elevada (≥ 2 mg/l) (Figura 2).

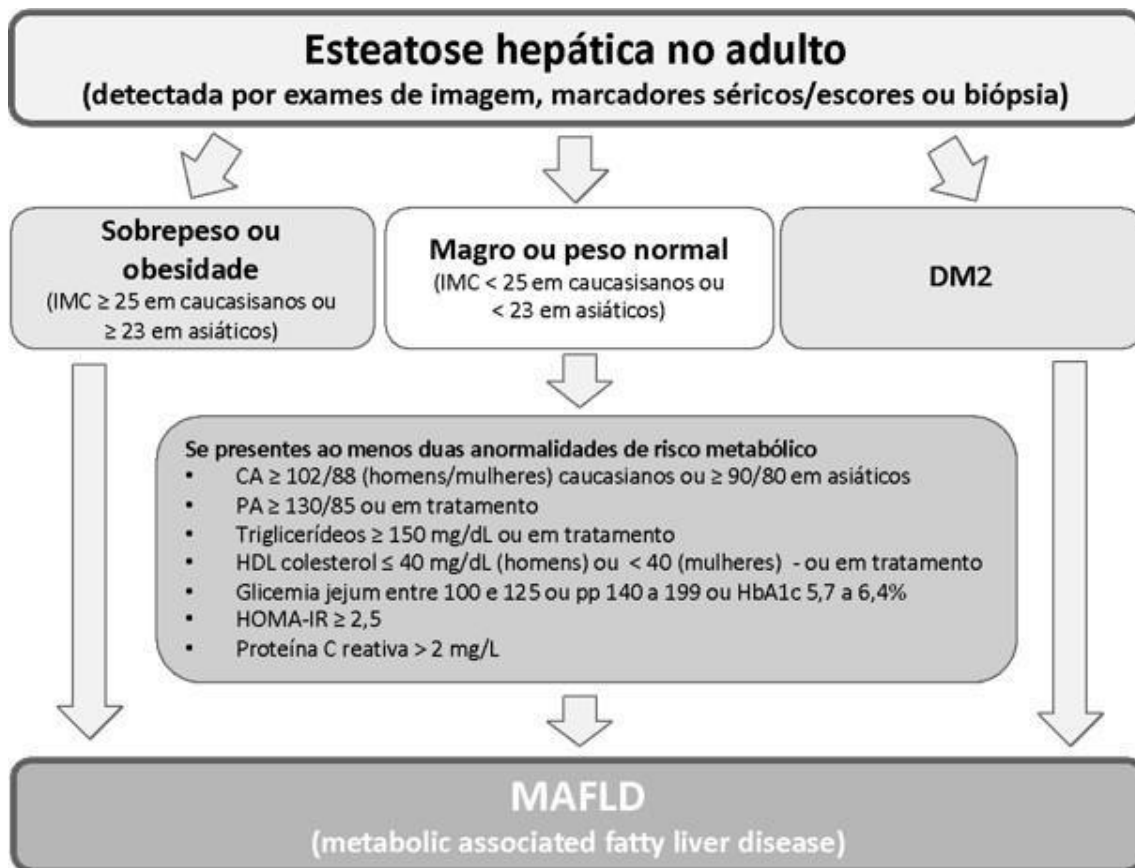


Figura 2: Critérios diagnósticos da MAFLD: a doença hepática gordurosa associada à disfunção metabólica está presente se a esteatose hepática estiver associada a fatores de risco metabólicos, como DM2, obesidade ou disfunção metabólica (pelo menos dois dos seguintes fatores de risco metabólico: hipertrigliceridemia, redução dos níveis HDL, pressão arterial elevada, aumento da circunferência abdominal, pré-diabetes, HOMA-IR elevado ou proteína C reativa de alta sensibilidade elevada).

Nesta nova definição, a presença de outras doenças hepáticas, incluindo a ingestão excessiva de álcool, não exclui a presença de MAFLD. Esta definição reflete um melhor conhecimento patogênico da doença, abandonando a necessidade tradicional de exclusão de outras doenças hepáticas e adotando critérios de inclusão, em concordância com sua

elevada prevalência e coexistência com outras doenças hepáticas. No entanto, ainda falta consenso quanto ao uso generalizado dessa nova sigla.

Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica e Fibrose

A presença de fibrose hepática é o principal preditor de morbimortalidade na DHGNA, com aumento do risco de complicações cardiovasculares e de doença hepática grave (8,9), devendo ser considerada, portanto, o fator mais importante na definição do prognóstico e seguimento desses pacientes.

Em uma coorte cujo objetivo foi investigar o prognóstico a longo prazo de 646 pacientes com diagnóstico de DHGNA comprovado por biópsia, mostrou que, quando comparado aos controles, o risco de doença hepática grave aumentou com o estágio de fibrose (F0; HR: 1,9 a F4; HR: 104,9) e o tempo para o desenvolvimento da descompensação hepática progrediu de 22-26 anos no estágio F0 para 0,9 anos no estágio F4 (9).

Outra coorte que incluiu 229 pacientes com diagnóstico de DHGNA comprovado por biópsia, mostrou que, quando comparado aos controles, a mortalidade neste grupo foi maior (HR: 1,29, $p=0,020$), com aumento da mortalidade em pacientes com fibrose nos estágios 3-4 (HR 3,3, $p < 0,001$). Também houve aumento do risco de doença cardiovascular (HR: 1,55, $p=0,01$), carcinoma hepatocelular (HR: 6,55, $p=0,001$) e cirrose (HR: 3,2, $p=0,041$) (51).

Um outro estudo, publicado este ano na *New England Journal of Medicine*, avaliando 1773 pacientes com DHGNA confirmada por biópsia, mostra que a evolução é distinta dentro dos estádios de fibrose (52).

Uma vez que a fibrose é o marcador de maior utilidade para prever a mortalidade futura em pacientes com DHGNA (51), o diagnóstico e estadiamento de fibrose é fundamental

no manejo desses pacientes, sendo um ponto chave no estabelecimento do tratamento e prognóstico da doença.

A biópsia ainda é considerada o padrão para a avaliação da fibrose hepática, no entanto, complicações raras, mas potencialmente fatais, baixa aceitabilidade, variabilidade de amostragem e custo podem restringir seu uso. Além disso, devido à epidemia de DHGNA em todo o mundo e às várias limitações relacionadas à biópsia hepática, ferramentas de avaliação não invasivas para detectar fibrose em pacientes com DHGNA são necessárias (53).

Avaliação não-invasiva da Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica

A ultrassonografia hepática é a técnica mais recomendada como primeira abordagem devido à sua ampla disponibilidade, baixo custo e segurança. Este método fornece dados quantitativos baseados nos parâmetros acústicos do tecido hepático, sendo que o fígado gorduroso aparece com a ecogenicidade aumentada (mais "brilhante"), uma vez que interfaces acústicas são aumentadas com o acúmulo de lipídios, mas isso só ocorre quando > 30% da esteatose hepática está presente (54). Três graus de esteatose foram propostos: grau 1: aumento da ecogenicidade hepática; grau 2: o fígado ecogênico obscurecendo as paredes ecogênicas dos ramos venosos portais; grau 3: o fígado ecogênico obscurece o contorno diafragmático. Os pontos fracos do ultrassom incluem uma grande variabilidade em sua precisão para detectar a esteatose hepática, apresentando maior precisão ao avaliar pacientes com esteatose hepática moderada a grave (55), falsos positivos devido à sobrecarga de ferro, além de ser menos preciso ao avaliar pacientes obesos (56) e de ser um método examinador-dependente (57).

A tomografia computadorizada tem uma taxa de detecção de esteatose hepática similar à ultrassonografia, porém expõe os pacientes à radiação ionizante, aumentando o risco associado ao seu uso como uma estratégia repetida de avaliação da gordura hepática (26).

Quando levamos em conta que ocorre a diminuição da gordura hepática com a progressão da fibrose/cirrose avançada (58), a ultrassonografia e a tomografia podem perder a população com maior necessidade de identificação e intervenção, uma vez que têm menor precisão para identificar os graus mais leves da esteatose.

Parâmetros de atenuação controlada (CAP) é um método baseado em ultrassom para quantificação de esteatose hepática que está associado à a elastografia transitória (Fibroscan®), tendo apresentado excelente precisão para a detecção de esteatose hepática (AUROC 0,87, IC 95% 0,82-0,92) (59).

A espectroscopia por RM é considerada o método não-invasivo mais preciso para quantificar a gordura hepática, medindo a relação entre os picos da água e da gordura, podendo assim detectar pequenas quantidades de gordura hepática (60,61). No entanto, tem limitações significativas que impedem seu uso em larga escala, incluindo a necessidade de conhecimento especializado para realizar e analisar seus resultados, além de possíveis erros de amostragem devido à cobertura espacial restrita do parênquima hepático, uma vez que utiliza um único voxel (região onde é feita a medição). A avaliação da gordura hepática por RM também pode utilizar a diferença em frequências de ressonância entre gordura e água, técnica que fornece a fração de gordura por densidade de prótons (PDFF), sendo capaz de retirar os fatores confundidores de imagem, que podem afetar a medição da gordura, sendo atualmente considerada um biomarcador reprodutível e preciso da gordura hepática (30,62–64). É importante ressaltar que a RM com quantificação de gordura por PDFF (RM-PDFF) supera as limitações da espectroscopia por RM, sendo amplamente disponível em sistemas comerciais de

ressonância magnética, fornecendo mapas de PDFF reconstruídos automaticamente. Além disso, os mapas de PDFF permitem avaliar várias regiões de interesse (ROI), superando a limitação relacionada à deposição heterogênea da gordura hepática.

Um estudo longitudinal que incluiu cinquenta pacientes com diagnóstico de DHGNA comprovado por biópsia, realizou uma avaliação pareada com biópsia hepática, espectroscopia por RM e RM-PDFF, mostrando que a RM-PDFF teve boa correlação com a espectroscopia por RM ($r = 0.98$, $P < 0.0001$) e foi mais sensível do a histologia na quantificação de aumentos ou diminuições no conteúdo de gordura do fígado (65), o que tem sido validado em outros estudos (66,67).

Estudos comparativos mostraram que a RM-PDFF supera o CAP em acurácia diagnóstica na esteatose hepática (68,69), no entanto mais estudos sobre seu custo-benefício serão necessários antes de sua ampla implementação na prática clínica (26).

Avaliação não-invasiva de fibrose hepática

Vários escores clínicos têm sido desenvolvidos para prever o risco de fibrose hepática na prática clínica, como o *Aspartate aminotransferase to platelet ratio* (APRI), BARD *Score*, HFS, *Enhanced liver fibrosis* (ELF), NFS e FIB-4, tendo sido o APRI e o FIB-4 *Score* desenvolvidos primeiramente para avaliação de pacientes com Hepatite C.

Quando esses biomarcadores foram comparados em uma meta-análise recente avaliando a precisão para a detecção de fibrose avançada na DHGNA, o NFS e o FIB-4 demonstraram ser superiores aos escores BARD e APRI (70), porém apresentaram menor especificidade quando usados em indivíduos > 65 anos (20% para o NFS e 35% para o FIB-4) (24).

Em outras meta-análises recentes, o NFS e o FIB-4 demonstraram capacidade de estratificar os pacientes de risco para fibrose hepática, tendo demonstrado desempenho comparável à biópsia (17), além de melhor desempenho diagnóstico para detecção de fibrose avançada em relação aos outros escores clínicos (18,19). No entanto, os testes ainda têm utilidade incerta na população pediátrica (71).

Já em relação ao HFS, um estudo recente avaliou a utilidade dos testes não invasivos em população latino-americana com DHGNA, usando a biópsia como padrão, mostrando que a AUROC para detecção de fibrose significativa foi maior para o FIB-4 e o HFS do que para o NFS (22). Outro estudo recente avaliando a performance do HFS na população mexicana mostrou maior valor preditivo negativo do que o NFS e o FIB-4, no entanto, desempenho inferior para detecção de fibrose avançada, com um valor preditivo positivo de apenas 36,7% quando a probabilidade pré-teste é de 14% (72).

Uma meta-análise incluindo 36 estudos avaliando a precisão do ELF na identificação de fibrose avançada ou cirrose em pacientes com DHGNA mostrou bom desempenho diagnóstico, com AUROC de 0,78 a 0,97, sendo outra possível alternativa à biópsia na avaliação de fibrose hepática em casos selecionados (73).

Em relação aos exames de imagem, os métodos de elastografia avaliam de forma quantitativa as propriedades biomecânicas do tecido hepático contra a deformação de cisalhamento, uma vez que as alterações mecânicas que ocorrem no fígado como consequência da deposição de fibrose levam a aumento da rigidez do órgão. Este aumento da rigidez pode ser detectado por estas técnicas através da quantificação da velocidade da onda de cisalhamento, que está relacionada com a rigidez do tecido, e pode ser convertida em kilopascal (15,74).

A elastografia transitória (Fibroscan®) é a técnica mais comumente utilizado na prática clínica para avaliação da fibrose hepática (23) e é o método mais validado até o momento. A precisão diagnóstica para fibrose avançada em pacientes com DHGNA pode atingir AUROC acima de 0,92 (23), porém é menos precisa para estágios intermediários (24) e apresenta limitações, conforme descrito anteriormente. Além disso, a esteatose hepática pode ser um fator a mais para superestimar a presença de fibrose através do Fibroscan (75).

Técnicas baseadas em ultrassom, como *Point shear wave elastography* e *Two-Dimensional shear wave elastography*, apresentam precisão comparável ao Fibroscan® (10), tendo demonstrado eficácia para detectar fibrose em estudos recentes (70,76), porém também apresentam falhas relacionadas ao sobrepeso e obesidade, ainda são necessários mais estudos para melhor definição dos pontos de corte a serem utilizados, principalmente entre os diferentes equipamentos disponíveis, e não existem dados suficientes sobre critério de qualidade, fatores de confusão ou precisão durante o seguimento dos pacientes (23).

A ressonância magnética (RM) convencional possui um papel limitado no diagnóstico da fibrose hepática em estágios iniciais, uma vez que as alterações morfológicas do fígado se manifestam apenas em estágios avançados da doença hepática crônica (23,29). Neste contexto, a ERM tem ganhado papel de destaque na avaliação da fibrose hepática, sendo atualmente o método não invasivo de maior acurácia para a detecção e o estadiamento de fibrose, com excelente concordância intra e interobservador (14,30,31). Comparativamente aos outros métodos, ela é a única técnica não-invasiva capaz de diagnosticar fibrose hepática leve com acurácia razoável (77).

Na avaliação da DHGNA, vários trabalhos demonstram a superioridade da ERM em relação aos outros métodos. Imajo e colaboradores compararam a performance

diagnóstica da ERM e da elastografia transitória em identificar fibrose estágio ≥ 2 ($\geq F2$), demonstrando diferença clinicamente significativa entre as técnicas, com AUROC de 0,91 e 0,81, respectivamente (68). Uma meta-análise incluindo 232 pacientes com DHGNA demonstrou alta acurácia para a detecção de fibrose, independente do IMC e do grau de inflamação, com AUROC de 0,86 ($\geq F1$), 0,87 ($\geq F2$), 0,90 ($\geq F3$) e 0,91 (F4) (78).

A ERM também pode ser usada para acompanhamento e avaliação de resposta terapêutica na DHGNA. Uma meta-análise avaliando a repetibilidade da ERM concluiu que uma mudança na rigidez em 20% ou mais representa uma verdadeira mudança na rigidez hepática com confiança de 95% (79).

O maior volume de amostragem do parênquima hepático é reconhecido como uma das principais vantagens da ERM em comparação aos demais métodos, visto que a fibrose frequentemente tem distribuição heterogênea. Dentre as demais vantagens, estão a alta taxa de sucesso em pacientes obesos e a possibilidade de ser combinada com exame dinâmico contrastado, permitindo a detecção de lesões hepáticas focais como o CHC, ou com uma sequência rápida para a quantificação de ferro e de gordura hepática (80).

As principais limitações da ERM incluem a baixa disponibilidade, o custo elevado, as falhas por sobrecarga de ferro hepático (que pode estar associada à doença hepática crônica em 10% a 30% dos pacientes (81)) e a presença de contraindicações, como marca-passo cardíaco, desfibrilador cardíaco implantável, implante coclear, fragmentos de metais no corpo, dentre outros.

Deve-se lembrar, no entanto, que os valores de rigidez hepática podem estar superestimados se o exame for realizado após uma refeição (74), limitação em comum de todos os métodos de elastografia.

Dentre os algoritmos de investigação de fibrose, temos o proposto pelo consenso ALEH de 2020 (Figura 3), o qual propõe que a avaliação inicial do risco de fibrose na DHGNA deve ser realizada através de escores não invasivos (NFS e FIB-4) 1, quando a fibrose avançada não é excluída, outros testes não invasivos devem ser realizados, como técnicas de elastografia. Além disso, em pacientes com risco intermediário a alto para fibrose avançada, a biópsia hepática deve ser considerada (21).

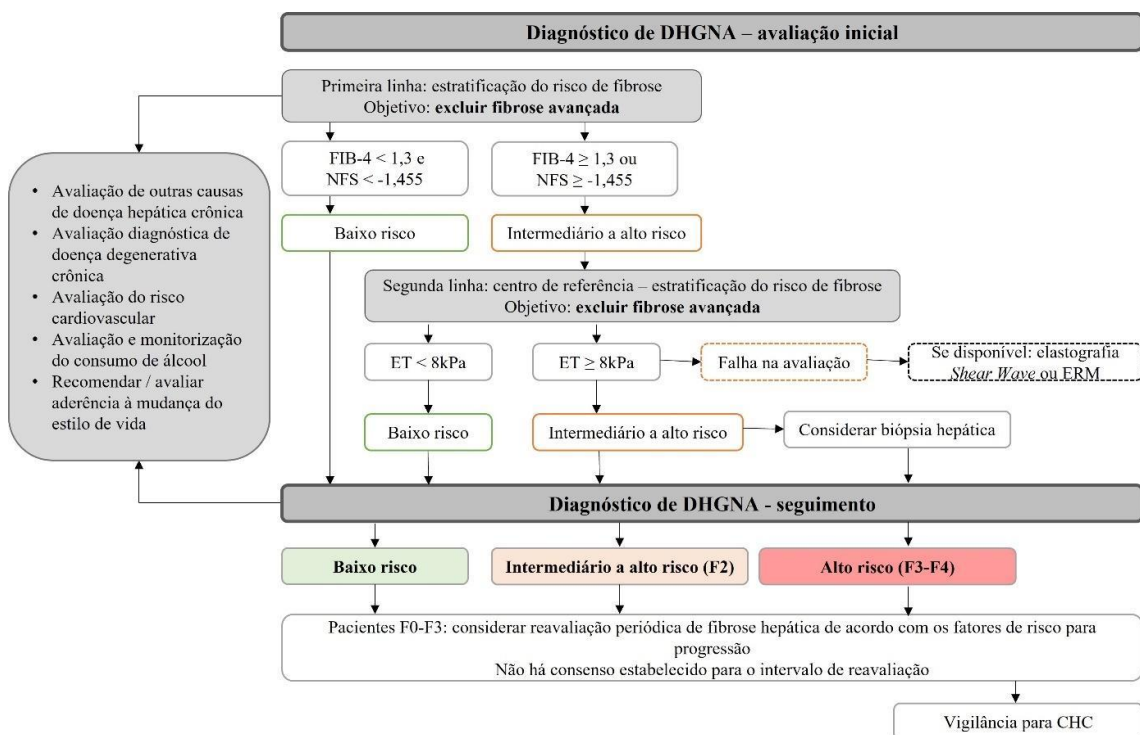


Figura 3: Avaliação inicial e estratificação de risco de fibrose hepática para pacientes com DHGNA. DHGNA: doença hepática gordurosa não-alcoólica; FIB-4, fibrosis-4 score; NFS, *non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score*; ET, elastografia transitória; ERM, elastografia por ressonância magnética; CHC, carcinoma hepatocelular.

Outro algoritmo interessante é o sugerido por Tomah e cols (Figura 4), que propõe pontos de corte para guiar o encaminhamento de pacientes com DM2 e DHGNA para a avaliação com especialista (82).

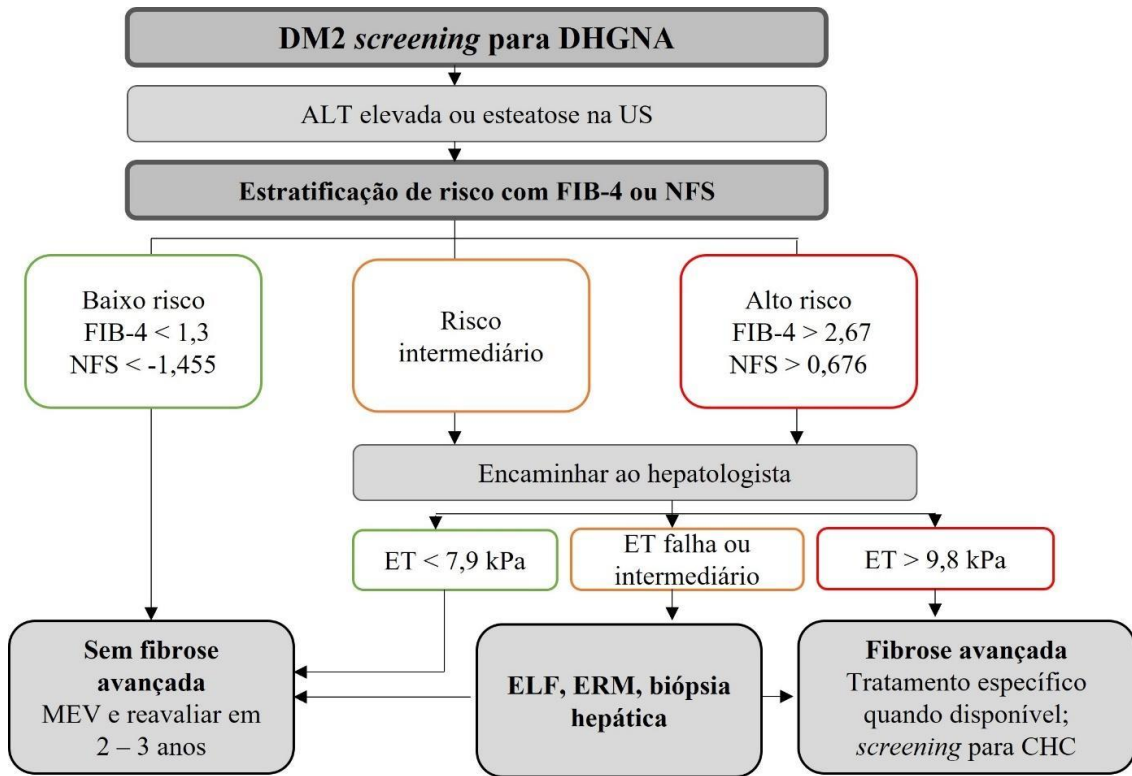


Figura 4: Algoritmo proposto para o rastreio de pacientes com DM2 para DHGNA. DM2, diabetes melito tipo 2; DHGNA: doença hepática gordurosa não-alcoólica; ALT, alanina aminotransferase; US, ultrassonografia; FIB-4, fibrosis-4 score; NFS, *non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score*; ET, elastografia transitória; ELF, *enhanced liver fibrosis*; ERM, elastografia por ressonância magnética; CHC, carcinoma hepatocelular; MEV, modificação do estilo de vida.

JUSTIFICATIVA

Considerando o aumento da morbimortalidade associado à presença de fibrose hepática em pacientes com DHGNA, sua identificação e estadiamento desde os estágios mais precoces tem grande impacto prognóstico. Os escores não invasivos, como NFS e FIB-4, são amplamente utilizados, mas são mais úteis para excluir fibrose avançada, uma vez que a maioria dos estudos publicados até o momento sobre esses escores clínicos considerou apenas a fibrose avançada em comparação com a biópsia hepática. Nossa sugestão de considerar pontos de corte utilizando como a padrão a ERM desde os estágios iniciais da fibrose é válida, pois a ERM é um método preciso para detectar e estadiar a fibrose com excelente concordância intra e interobservador, oferece a possibilidade de tratamento precoce na DHGNA e redução da morbimortalidade associada a essa condição, sem a necessidade de submeter o paciente a um procedimento invasivo com riscos inerentes, como a biópsia hepática.

QUESTÕES DE PESQUISA

1 - Quais os pontos de corte para NFS e FIB-4 na estimativa da presença de fibrose desde estágios iniciais em pacientes com DHGNA?

HIPÓTESES

1 - Determinar novos pontos de corte de NFS e FIB-4 na estimativa da fibrose desde estágios iniciais pode ser útil para indicar a investigação clínica precoce em pacientes com DHGNA.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Determinar os pontos de corte do NFS e do FIB-4 que melhor identifiquem a presença de fibrose hepática em pacientes com DHGNA, utilizando com padrão os estágios de fibrose estimados através da ERM.

Objetivos específicos

- 1 - Avaliar se a presença de DM2 influencia nos pontos de corte obtidos;
- 2 - Avaliar se a presença de obesidade influencia nos pontos de corte obtidos;
- 3 - Correlacionar os graus de esteatose hepática com a presença de fibrose por ERM.

ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

Title: New FIB-4 and NFS cutoffs to guide sequential non-invasive assessment of liver fibrosis by Magnetic Resonance Elastography in MAFLD

Short running title: Cutoffs for the non-invasive assessment of liver fibrosis in MAFLD

Authors: Louise Torres^{1,2}, Alice Schuch², Larisse Longo¹, Bruna Bressan Valentini², Gabriela Schneider Galvão², Rodrigo Bartels², Mário Reis Álvares-da-Silva^{1,3}

Affiliation:

¹ Graduate Program: Sciences in Gastroenterology and Hepatology, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

² Department of Radiology, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brazil

³ Gastroenterology and Hepatology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

Declaration of Interest: Authors have nothing to disclose.

Address for correspondence: Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos, n° 2350/ sala 2033, 2° andar. CEP 90035-903, Bairro Santana, Porto Alegre, Rio Grande do Sul (RS) – Brazil.

Corresponding author: Mário Reis Álvares-da-Silva, MD and PhD in Gastroenterology and Hepatology at the Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, Brazil. Phone: +55-051-3359.8847; Fax: +55-051-3359.8760. E-mail – marioreis@live.com

List of abbreviations: ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; AUROC: areas under the ROC curve; BMI: body mass index; FIB-4: FIB-4 Score; GRE: gradient-echo pulse sequences; HCC: hepatocellular carcinoma; IFG: impaired fasting glycemia; kPa: kilopascals; MAFLD: metabolic associated fatty liver disease; MR: multiparametric magnetic resonance; MRE: magnetic resonance elastography; NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease; NFS: NAFLD Fibrosis Score; NASH: non-alcoholic steatohepatitis; PDFF: proton density fat fraction; ROC: Receiver Operating Characteristic; T2DM: type 2 diabetes mellitus.

Abstract:

Introduction: Liver fibrosis is an important prognosis marker in metabolic associated fatty liver disease (MAFLD). Biopsy has been used as a standard for evaluating liver fibrosis, but it is an invasive procedure. Therefore, non-invasive tools have been developed, such as clinical scores and magnetic resonance elastography (MRE), the most accurate non-invasive method. **Objective:** To determine the NAFLD Fibrosis Score (NFS) and the Fibrosis-4 Score (FIB-4) cutoff points that best identify MAFLD patients at risk for liver fibrosis. **Methods:** Single-center and cross-sectional study, with a prospective selection of MAFLD patients who underwent MRE. The cutoff points of the NFS and the FIB-4 which better discriminated between patients with fibrosis, using the MRE as the standard, were determined. **Results:** Two cohorts were analyzed, a training cohort that included the initial 183 patients, and a validation cohort that included 289 patients. In the training cohort, 60.1% had mild steatosis and 11.5% had liver fibrosis \geq F1 by MRE. ROC curves were developed for the FIB-4 and the NFS, and the cutoff points chosen were 1.505 (S = 85% and E = 86%) for the FIB-4 and -0.835 (S = 100% and E = 70%) for the NFS, showing greater specificity than the cutoff points currently used (51%

and 76%, respectively). The two cohorts have similar characteristics and similar sensitivity and specificity results for the chosen cut-off points. **Conclusion:** This study demonstrates cutoff points with greater specificity and excellent sensitivity to guide the indication for further liver evaluation by MRE in MAFLD patients.

Keywords: Steatosis; Fatty liver; Metabolic associated fatty liver disease; Nonalcoholic steatohepatitis; Liver Cirrhosis; Elasticity Imaging Techniques; Biomarker; Clinical Marker.

Introduction:

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), recently renamed as metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) (1), is defined as the presence of hepatic steatosis, detected by histology or imaging (2,3), ranging from isolated steatosis to non-alcoholic steatohepatitis (NASH), it can progress to fibrosis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma (HCC) (4,5) (6,7). Affecting 20-30% of the general population, currently, it is the most frequent chronic liver disease worldwide (2,8), with an exponential increase in its prevalence expected in the coming decades, together with the global epidemic of obesity, type 2 diabetes mellitus (T2DM), and sedentary lifestyle (6).

Fibrosis is the main predictor of morbidity and mortality in MAFLD, increasing the risk of cardiovascular disease and severe liver disease (9,10). Thus, fibrosis is key in its management. Although liver biopsy remains the gold standard for diagnosing and staging fibrosis, it is an invasive procedure, subject to sampling errors, interobserver variability, and clinical complications (11,12). For this reason, non-invasive tools have been developed for the assessment of hepatic fibrosis in MAFLD (11), such as tests based on clinical and laboratory parameters, like NAFLD Fibrosis Score (NFS) and the Fibrosis-4

Score (FIB-4) (13,14), as well as physical or imaging features of the liver (15,16) (17), such as elastography techniques.

Both NFS and FIB-4 enable patients at risk for liver fibrosis (18,19), being indicated by current guidelines in the initial evaluation of MAFLD patients (20,21). However, the cutoff points currently used present a considerable rate of false positives, with a positive predictive value of 43% for both (9). Magnetic resonance elastography (MRE) has gained a prominent role in the assessment of liver fibrosis and is currently the most accurate non-invasive method for the detection and staging of fibrosis, with excellent intra- and inter-observer agreement (15,22, 23). However, this method is not yet widely available, mainly due to its cost, and when we consider the high prevalence of MAFLD, assessing liver fibrosis in all these patients becomes unfeasible (11). In this scenario, the present study aims to identify patients at risk for liver fibrosis from the early stages (F1-F2) by calculating NFS and FIB-4, comparing their results to the non-invasive evaluation of liver fibrosis by MRE.

Methods:

Single-center and cross-sectional study, conducted through the prospective selection of patients aged 18 years or older who were referred by the clinician to undergo multiparametric magnetic resonance (MR) of the liver for suspected or followed-up MAFLD in the period 2020-2021, and who consented to participate in the study by signing the consent form. At the end of the performance of MR, MRE was added at no cost for the additional assessment of liver stiffness.

Inclusion criteria: MAFLD diagnosis (according to fat quantification performed by MR of the liver). Exclusion criteria: absence of MAFLD criteria for steatosis on MR of liver

(proton density fat fraction; PDFFF < 5.6%), diagnosis of viral hepatitis B and C, exams not completed at the request of the patient, patients who refused to participate in the research, exams with technical failure that prevented the quantitative assessment of liver stiffness (movement artifacts, liver iron overload, metallic artifacts due to the presence of a prosthesis in the abdomen region).

Two cohorts were analyzed, a training cohort that included the initial 183 patients, and a validation cohort that included a total sample of 289 patients. In the validation cohort, we also included patients without steatosis on MR of the liver, since, in those 60 patients excluded in the first analysis for not having steatosis (Supplementary Data), a considerable percentage of obesity and hyperglycemia were observed. Patients with viral hepatitis who reported alcohol consumption were also included in the validation cohort, taking into account the MAFLD criteria (1).

Exam Protocol:

All exams were performed in a 1.5 tesla magnetic resonance equipment (Magnetom Aera - Siemens Healthineers – Erlangen, Germany), using 18 channel body matrix coil. A 6-hour fasting period was requested before the exam.

Liver steatosis assessment: performed through MR of the liver, which uses gradient-echo pulse sequence (GRE) for fat and iron quantification named *vibe q-Dixon*, that uses six echoes and provides coverage for the entire liver, generating maps of fat, R2* (iron), water fraction separately. The software used in the study was the *LiverLab®* - Siemens Healthineers – Erlangen, Germany. The variables provided are the PDFFF, expressed as a percentage, and the liver iron concentration, expressed in milligrams per gram (mg/g).

Hepatic fibrosis assessment: performed through MRE of the liver, which uses additional software and hardware (*Resoundant®*) installed on the magnetic resonance equipment.

ERM is performed through the generation of mechanical waves by an external device transmitted through plastic tubes to a device placed over the patient's right hypochondrium. The protocol uses 2D GRE, generating images of four axial slices of the liver, each ten millimeters thick, encompassing the largest possible area of the liver parenchyma. The protocol used added four minutes to the total exam time. The variable provided is liver stiffness, expressed in kilopascals (kPa). Intravenous contrast was not used, and the total exam time is approximately 20 minutes.

Exam Interpretation:

Image analysis was performed by a radiologist with approximately five years of experience in MRE. The quantification of liver fat was obtained by placing a region of interest with a radius of one cm on the fat maps in each of the anatomical segments of the liver, avoiding areas of large vessels and the gallbladder, which can generate less accurate results. The final value was calculated as the mean of the values found and expressed in percent. Hepatic steatosis was considered with PDFF \geq 5.6%.

The quantification of liver stiffness was obtained through the region of interest, drawn freehand in the largest portion of the liver parenchyma in the elastograms with a confidence map of the 4 axial slices of the MRE, avoiding artifact areas, including the edge artifact, pits and fissures, large vessels (> 3 mm), wave interference regions, in addition to an area of low statistical confidence (24), which generates less accurate results. The final value was calculated as the mean of the 4 measurements taken, expressed in kPa, and classified into fibrosis stages 1–2, 2–3, 3–4 and 4, which are equivalent to stages F1–F2, F2–F3, F3–F4 and F4 of the METAVIR system, to facilitate clinical practice, considering that an excellent correlation between MRE rigidity and the pathological degree of fibrosis obtained in liver biopsy samples has already been demonstrated

(24)(24). The following values were considered: F1-F2: 2,9-3,5 kPa; F2-F3: > 3,5-4,0 kPa; F3-F4: > 4,0-5,0 kPa; F4 > 5kPa (24).

Clinical and Laboratory Data:

Clinical and laboratory data were collected from the patient himself in an interview held just before the examination, with the clinician or through a search in the institution's medical records. Laboratory tests performed up to 6 months before the test was considered.

The NFS (variables: age, body mass index (BMI), diabetes mellitus, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), platelets and albumin) and FIB-4 (variables: age, AST, ALT and platelets) were calculated. The scores were correlated with the fibrosis stages estimated through MRE.

Statistical Analysis:

The sample size calculation consisted of 289 patients, considering an error margin of 5% and adopting a significance level of 5%. To determine the cutoff points for the FIB-4 and the NFS according to fibrosis, the Receiver Operating Characteristic (ROC) curve was used. Sensitivity, specificity, and area under the curve were calculated. To assess the association between categorical variables, the chi-square test with Yates correction was applied. The level of significance adopted was 5% and the analyses were performed using the SPSS version 21.0 program (25).

Ethical Consideration:

The present study was approved by the Ethics Committees of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CAAE 26455019.6.0000.5327) and Hospital Moinhos de Vento (number 4.074.580), follows the guidelines for studies in humans.

Results:

Training Cohort:

Of the 263 patients who underwent MR of the liver and MRE examinations, 183 were included in the study, according to the flowchart (Figure 1). The characteristics of the patients included are summarized in Table 1.

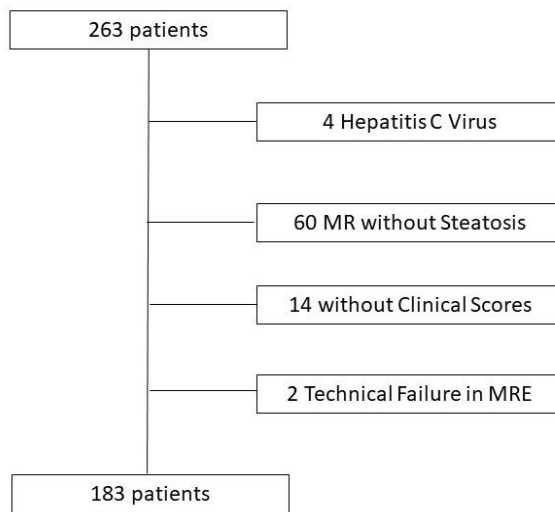


Figure 1: Flowchart of the study population. MR, magnetic resonance; MRE, magnetic resonance elastography.

The average age was 52.9 ± 12.4 years, with females constituting 50.3% of the population. More than half were obese as defined by BMI and had central obesity as defined by waist circumference and impaired fasting glycemia (IFG). In addition, almost half of the patients met the criteria for metabolic syndrome. Regarding hepatic steatosis, 60.1% of the patients had a mild degree, and a similar number of patients had moderate (19.7%) and severe (20.2%) steatosis. There were 21 patients with some degree of liver fibrosis (\geq F1) and 10 with advanced fibrosis (F3-F4).

Table 1: Demographics of the included patients.

Variables*	N = 183
Age (years)	52.9 ± 12.4
Gender	
Female	92 (50.3)
Male	91 (49.7)
Weight (kg)	87.1 ± 15.9
Height (m)	1.67 ± 0.10
IMC (kg/m ²)	31.1 ± 4.3
Diabetes mellitus	46 (25.1)
Impaired fasting glycemia	111 (60.7)
Hypertension	86 (47.0)
Dyslipidemia	89 (48.6)
Obesity	107 (58.8)
Metabolic syndrome	85 (46.4)
Alcohol consumption	
Yes	79 (43.2)
No	104 (56.8)
Waist circumference (cm)	102.9 ± 13.1
Glucose (mg/dl)	105.4 ± 17.0
AST (U/l)	32 (24 to 47)
ALT (U/l)	44 (30 to 69)
Platelet count (X 10 ⁹ /l)	242 ± 66
Albumin (g/dl)	4.58 ± 0.36
Triglycerides (mg/dl)	153.5 (113 to 208.5)
HDL	49.5 ± 13.8
NFS	-1.31 (-2.44 to -0.49)
FIB-4	1.10 (0.85 to 1.45)
PDFF (%)	13.0 (8.6 to 19.3)
Steatosis grade	
Grade 1	110 (60.1)
Grade 2	36 (19.7)
Grade 3	37 (20.2)
R2*	47.3 ± 15.6
kPa	2.3 ± 1.0
Fibrosis grade	
F0	162 (88.5)
F1-F2	8 (4.4)
F2-F3	3 (1.6)
F3-F4	1 (0.5)
F4	9 (4.9)

* Values are means ± standard deviations (SD), medians (IQR), or counts (%), as appropriate. Diabetes mellitus is defined as the treatment of previously diagnosed

diabetes mellitus with antidiabetic drugs; impaired fasting glycemia, defined as fasting blood glucose of 100 mg/dL; hypertension, defined as the treatment of previously diagnosed hypertension; dyslipidemia, defined as the treatment of previously diagnosed dyslipidemia; and obesity, defined as a BMI \geq 30 kg/m². Abbreviations: AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; HDL, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol; NFS, non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score; FIB-4, fibrosis-4 score; PDFF, proton density fat fraction; kPa, kilopascal; R2*, MR relaxometry of the liver (hepatic iron content).

There was a significant correlation between the presence of IFG/T2DM and fibrosis ($p = 0.006$), with a prevalence of liver fibrosis of 17.1% in diabetic patients, above the prevalence found in the general sample of 11.4%. In the sample evaluated, hypertension ($p = 0.22$), dyslipidemia ($p = 1.00$), and obesity ($p = 0.07$) showed no significant correlation with fibrosis. Furthermore, there was no difference in the prevalence of fibrosis between the degrees of steatosis, being 10.0%, 16.7%, and 10.8%, respectively, for the mild, moderate, and severe degrees.

ROC Curve Analysis:

The ROC curves were developed for the NFS and the FIB-4 (Figure 2) to determine the usefulness of these scores for predicting from early fibrosis (F1-F2) to advanced fibrosis (F3-F4), the clinical question of interest. The area under the ROC curve (AUROC, 95% CI) was greater for the FIB-4 (0.948; 0.892–1.000) than for the NFS (0.938; 0.891–0.984). This data indicates that the two clinical scores studied can accurately predict patients at risk for liver fibrosis.

The ROC curves were also developed, separating the groups of euglycemic and undiagnosed T2DM patients (euglycemic/non-T2DM) and patients with IFG and/or diagnosed with T2DM (IFG/T2DM). For patients IFG/T2DM, the area under the ROC curve (AUROC, 95% CI) was 0.932; 0.868–0.996 for the NFS (Figure 3) and 0.940; 0.871–1.000 for the FIB-4 (Figure 4).

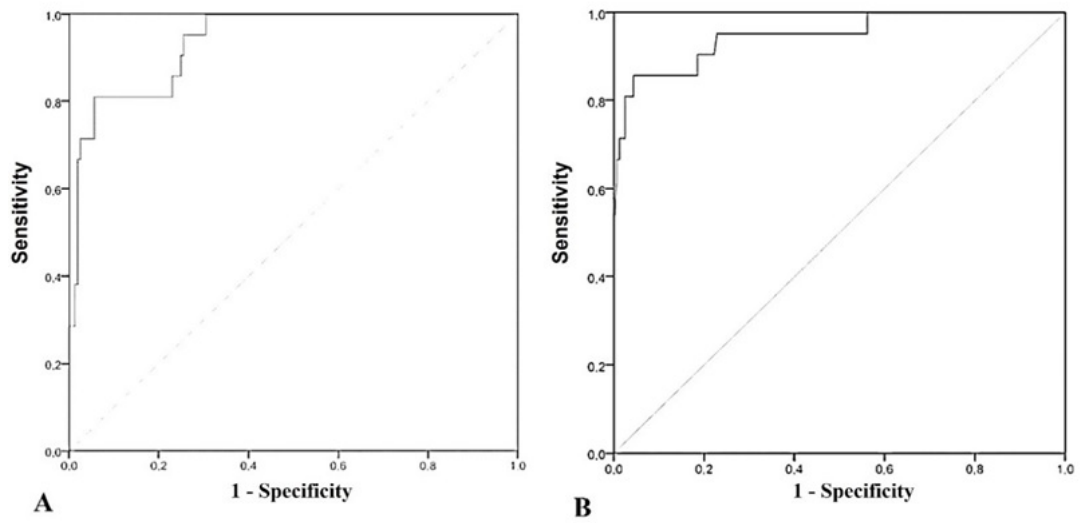


Figure 2: ROC curves (A) NAFLD Fibrosis Score and (B) FIB-4 Score. $p < 0.001$.

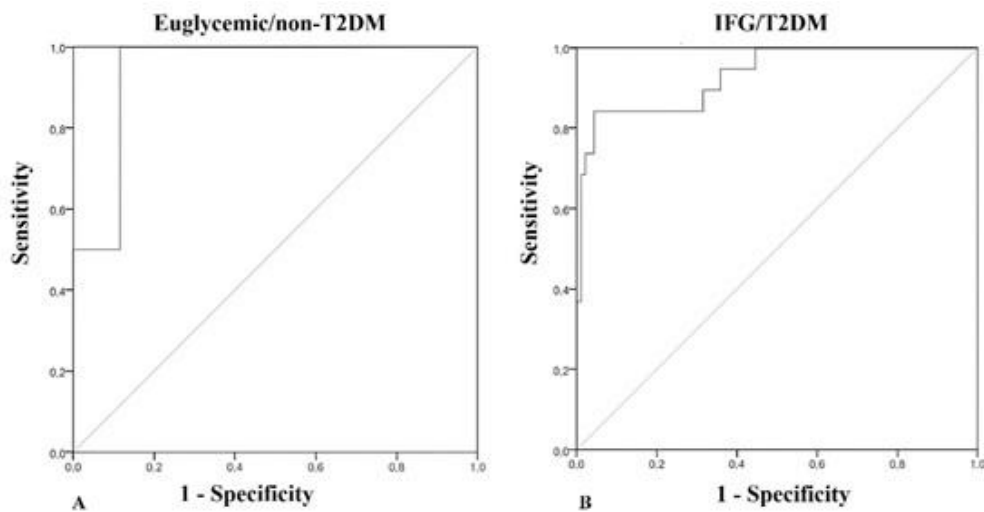


Figure 3: NAFLD Fibrosis Score for patients euglycemic/non-T2DM ($p = 0.034$) and IFG/T2DM ($p < 0.001$).

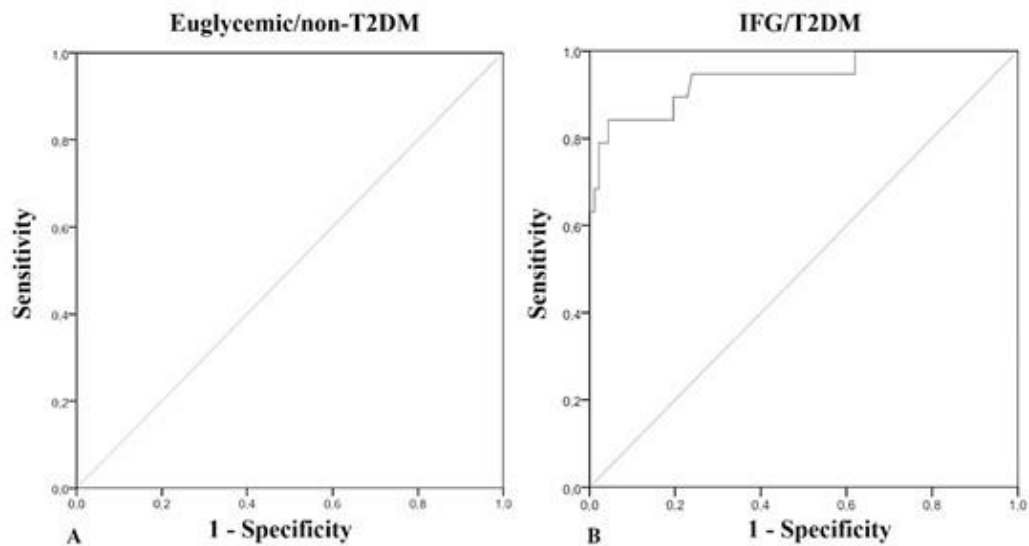


Figure 4: FIB-4 Score for patients euglycemic/non-T2DM ($p = 0.016$) and IFG/T2DM ($p < 0.001$).

The Clinical Utility of the NAFLD Fibrosis Score and the FIB-4 Score for Identifying Fibrosis

The sensitivity and specificity of the NFS and the FIB-4 along the ROC curve were evaluated to determine the cutoff points that best discriminated between patients with fibrosis, with values of -0.835 being found for the NFS and 1.505 for the FIB-4. For the NFS (cutoff = -0.835), the sensitivity was 100%, the specificity was 70%, with a diagnostic accuracy of 73%. For the FIB-4 (cutoff = 1.505), the sensitivity was 85%, the specificity was 86%, with a diagnostic accuracy of 86%. When used together, NFS \geq -0.835 and FIB-4 \geq 1.505), the sensitivity was 86%, the specificity was 92%, with a diagnostic accuracy of 91%.

The sensitivity and specificity of the NFS and the FIB-4 along the ROC curve were also evaluated, separating the groups of patients euglycemic/non-T2DM and IFG/T2DM, to determine the cutoff points that best discriminate between the presence and absence of

fibrosis in these groups, with values of -0.815 (euglycemic/non-T2DM) and -0.360 (IFG/T2DM) being found for the NFS and 3.64 (euglycemic/non-T2DM) and 1.49 (IFG/T2DM) for the FIB-4.

For the NFS in patients euglycemic/non-T2DM (cutoff = -0.815), the sensitivity was 100%, the specificity was 88%, with a diagnostic accuracy of 87%. In patients IFG/T2DM (cutoff = -0.360), the sensitivity was 84%, the specificity was 85%, with a diagnostic accuracy of 85%. When analyzing the cutoff point that would give a sensitivity of 100% in the latter group, a value of -0.835 was found, the same value found in the general sample, but at the expense of a reduction in specificity to 62%.

For the FIB-4 in patients euglycemic/non-T2DM (cutoff = 3.64), the sensitivity was 100%, the specificity was 100%, with a diagnostic accuracy of 100%. In patients IFG/T2DM (cutoff point = 1.49), the sensitivity was 84%, the specificity was 85%, with a diagnostic accuracy of 85%. When analyzing the cutoff point that would give a sensitivity of 100% in the latter group, a value of 0.985 was found, but at the expense of a reduction in specificity to 38%.

The sensitivity and specificity of the currently used cutoff points (NFS \geq -1.45 and FIB-4 \geq 1.30) were also analyzed to discriminate between patients with fibrosis in our general sample and by separating the groups of patients euglycemic/non-T2DM and IFG/T2DM, with the results being compared to the proposed cutoff points, as shown in Tables 2 and Table 3.

Table 2: Analysis between the sensitivity and specificity of the proposed cutoff points and those already used in the general population

Variables*	Sensitivity (%)	Specificity (%)
NFS \geq -0.835	100	70
NFS \geq -1.45	100	51
FIB-4 \geq 1.505	85	86
FIB-4 \geq 1.30	95	76

*NFS, non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score; FIB-4, fibrosis-4 score.

Table 3: Analysis between the sensitivity and specificity of the proposed cutoff points and those already used, separating the groups of patients euglycemic/non-T2DM and IFG/T2DM.

Variables*		Sensitivity (%)	Specificity (%)
Euglycemic/non-T2DM	NFS \geq -0.815	100	88
	NFS \geq -1.45	100	80
IFG/T2DM	NFS \geq -0.360	84	85
	NFS \geq -1.45	100	29
Euglycemic/non-T2DM	FIB-4 \geq 3.64	100	100
	FIB-4 \geq 1.30	100	79
IFG/T2DM	FIB-4 \geq 1.49	84	85
	FIB-4 \geq 1.30	95	75

*NFS, non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score; FIB-4, fibrosis-4 score; T2DM, type 2 diabetes mellitus; IFG, impaired fasting glycemia.

Only two patients (0.8%) were excluded due to a technical failure in the RME due to iron overload, a number too small to interfere with the results found. Data related to the 60 excluded patients are in Supplementary Data.

Validation Cohort:

Of the total of 289 patients, we had 28 losses, 26 due to lack of laboratory tests to calculate the scores and 2 due to technical failure related to iron overload. A total of 261 were included in the study. As demonstrated in Table 4, the two cohorts have similar characteristics, both in terms of age and physical composition, as well as in terms of comorbidities and the results of laboratory and imaging tests.

Table 4: Demographics of the included patients of two cohorts.

Variables*	N = 183	N= 261
Age (years)	52.9 ± 12.4	53.6 ± 12.4
Gender		
Female	92 (50.3)	126 (48.3)
Male	91 (49.7)	135 (51.7)
Weight (kg)	87.1 ± 15.9	85.7 ± 15.9
Height (m)	1.67 ± 0.10	1.68 ± 0,10
IMC (kg/m ²)	31.1 ± 4.3	30.5 ± 4.3
Diabetes mellitus	46 (25.1)	57 (21.8)
Impaired fasting glycemia	111 (60.7)	139 (53.5)
Hypertension	86 (47.0)	122 (46.7)
Dyslipidemia	89 (48.6)	131 (50.2)
Obesity	107 (58.8)	140 (53.8)
Metabolic syndrome	85 (46.4)	121 (46.4)
Alcohol consumption		
Yes	79 (43.2)	117 (44.8)
No	104 (56.8)	144 (55.2)
Waist circumference (cm)	102.9 ± 13.1	101.9 ± 12.8
Glucose (mg/dl)	105.4 ± 17.0	104.5 ± 17.5
AST (U/l)	32 (24 - 47)	31 (24 - 47)
ALT (U/l)	44 (30 - 69)	41 (28 - 67)
Platelet count (X 10 ⁹ /l)	242 ± 66	236 ± 65
Albumin (g/dl)	4.58 ± 0.36	4.59 ± 0.34

Triglycerides (mg/dl)	153.5 (113 - 208.5)	143 (101 - 200)
HDL	49.5 ± 13.8	50.0 ± 13.8
NFS	-1.31 (-2.44 to - 0.49)	-1.21 (-2.36 to -0,50)
FIB-4	1.10 (0.85 to 1.45)	1.15 (0.86 to 1.52)
PDFF (%)	13.0 (8.6 - 19.3)	10.8 (6.0 – 17.6)
Steatosis grade		
Grade 1	110 (60.1)	127 (48.7)
Grade 2	36 (19.7)	40 (15.3)
Grade 3	37 (20.2)	41 (15.7)
R2*	47.3 ± 15.6	47.2 ± 17.4
kPa	2.3 ± 1.0	2.4 ± 1.0
Fibrosis grade		
F0	162 (88.5)	226 (77.8)
F1-F2	8 (4.4)	13 (5.0)
F2-F3	3 (1.6)	3 (1.1)
F3-F4	1 (0.5)	1 (0.4)
F4	9 (4.9)	13 (5.0)

* Values are means ± standard deviations (SD), medians (IQR), or counts (%), as appropriate. Diabetes mellitus is defined as the treatment of previously diagnosed diabetes mellitus with antidiabetic drugs; impaired fasting glycemia, defined as fasting blood glucose of 100 mg/dL; hypertension, defined as the treatment of previously diagnosed hypertension; dyslipidemia, defined as the treatment of previously diagnosed dyslipidemia; and obesity, defined as a BMI ≥ 30 kg/m². AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; HDL, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol; NFS, non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score; FIB-4, fibrosis-4 score; PDFF, proton density fat fraction; kPa, kilopascal; R2*, MR relaxometry of the liver (hepatic iron content).

When we compared the sensitivity and specificity of the cutoffs in the two cohorts, we also observed similar results (Table 5).

Table 5: Analysis between the sensitivity and specificity of the proposed cutoff points and those already used in the general population for the two cohorts.

Variables*	Sensitivity (%)	Specificity (%)
	N = 183 / N = 261	N = 183 / N = 261
NFS \geq -0.835	100 / 96	70 / 69
NFS \geq -1.45	100 / 97	51 / 50
FIB-4 \geq 1.505	85 / 87	86 / 81
FIB-4 \geq 1.30	95 / 93	76 / 70

* NFS, non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score; FIB-4, fibrosis-4 score.

Discussion:

In this study we described new cutoffs for the main clinical scores that enable to discriminate against the presence or absence of fibrosis assessment in patients with MAFLD, to help refining the indication of sequential MRE to further estimate liver fibrosis since there are still no studies on this specific issue. The new cutoff proposed (NFS \geq -0,835 and FIB-4 \geq 1,505) showed better specificity in discriminating liver fibrosis than the currently used cutoff, with great sensitivity, mainly when used together, with a diagnostic accuracy of 91%. Once an ideal non-invasive test for assessment of hepatic fibrosis would be sensitive and specific, the new cutoffs agree with this purpose.

Most published studies on these clinical scores to date have considered only advanced fibrosis once compared with hepatic biopsy (9,13, 14). Our suggestion to consider MRE from the early stages of fibrosis is valid, as MRE is an accurate method for detecting and staging fibrosis with excellent intra- and inter-observer agreement (15,22, 23), offers the possibility of early treatment in MAFLD patients, without the need

to submit the patient to an invasive procedure with inherent risks (11,12), such as liver biopsy.

We also separated our sample into two groups euglycemic/non-T2DM and IFG/T2DM, once impaired fasting glycemia/T2DM showed an increased risk of hepatic fibrosis, as diabetes risk and T2DM are closely associated with the severity of MAFLD, progression to NASH, advanced fibrosis and its complications, such as HCC (2,26). Furthermore, there are no studies aimed at defining specific cutoff points in these groups of patients. For the group IFG/T2DM, the proposed new cutoff points (NFS ≥ -0.360 and FIB-4 ≥ 1.49) had a considerable increase in specificity for both the NFS and the FIB-4 when compared with the current cutoffs. The FIB-4 also showed much greater specificity in discriminating patients with fibrosis from the group euglycemic/non-T2DM, the new cutoff point (≥ 3.64) being higher than the one currently used to predict advanced fibrosis (≥ 2.67), with 100% diagnostic accuracy.

Our results propose new cutoff points for the main clinical scores used in the initial assessment of fibrosis in MAFLD, to discriminate between the absence or presence of liver fibrosis both for the general population and for patients with and without IFG/T2DM, to indicate the assessment of hepatic fibrosis in patients who would benefit from the further investigation with the MRE, the most accurate non-invasive method for this purpose, but still not available, mainly due to the cost, avoiding unnecessary expenses.

We also included patients with alcohol consumption, due to the high frequency of association with NAFLD and because current studies have shown an association of even moderate consumption of alcohol with worsening of the hepatic fibrosis measures (27). Furthermore, MAFLD definition showed has a higher fibrosis burden when compared to

NAFLD group (28), and to be better at identifying the group with fatty liver and significant fibrosis assessed by non-invasive tests (27).

Regarding the patients excluded for not having hepatic steatosis, almost 30% had a recent ultrasonography suggesting steatosis. This makes us question the great variability in its accuracy in detecting hepatic steatosis by ultrasound (29) and its rate of false positives, including in patients with iron overload, making necessary further studies to determine more objective diagnostic criteria, while more accurate methods are not widely available in clinical practice. Another reason identified for the absence of steatosis in these patients was that many had already started clinical treatment for metabolic syndrome and steatosis before the exam, in addition to many who had metabolic risks such as obesity, IFG and metabolic syndrome, but without criteria for steatosis in MR of the liver.

The strengths of this study are the large number of patients prospectively included the fact that all exams were performed in the same center with great experience in MRE, using the same device, and analyzed by the same radiologist. In addition, laboratory tests were performed at a reliable local laboratory. The main limitations were related to not having confirmed MAFLD and fibrosis diagnosis and staging by biopsy, in addition to the subjective nature of the assessment of alcohol consumption, since, by questions related to the flow of exams in the hospital, the Alcohol Use Disorders Identification Test was not applied.

In conclusion, NFS and FIB-4 are useful tools to guide the indication for further liver evaluation in MAFLD patients with MRE, from early stages of fibrosis, and this study demonstrates new cutoff points with better specificity and great sensibility to discriminate between the absence or presence of hepatic fibrosis both for the general

population and for patients with and without IFG/T2DM. However, more studies are needed to validate these findings.

References:

1. Eslam M, Sanyal AJ, George J, International Consensus Panel. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. maio de 2020;158(7):1999-2014.e1.
2. 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*. agosto de 2011;34(3):274–85.
3. 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*. 1º de agosto de 2010;53(2):372–84.
4. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. dezembro de 2011;43(8):617–49.
5. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathologic Patterns and Biopsy Evaluation in Clinical Research. *Semin Liver Dis*. fevereiro de 2012;32(1):3–13.
6. Mahady SE, George J. Predicting the future burden of NAFLD and NASH. *J Hepatol*. 1º de outubro de 2018;69(4):774–5.
7. Arab JP, Arrese M, Trauner M. Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annu Rev Pathol*. 1º de janeiro de 2018;13:321–50.
8. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73–84.

9. Castellana M, Donghia R, Guerra V, Procino F, Castellana F, Zupo R, et al. Fibrosis-4 Index vs Nonalcoholic Fatty Liver Disease Fibrosis Score in Identifying Advanced Fibrosis in Subjects With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis. *Off J Am Coll Gastroenterol ACG*. setembro de 2021;116(9):1833–41.
10. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, et al. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J Hepatol*. 1º de dezembro de 2017;67(6):1265–73.
11. Albhaisi S, Sanyal AJ. Applying Non-Invasive Fibrosis Measurements in NAFLD/NASH: Progress to Date. *Pharm Med*. 1º de dezembro de 2019;33(6):451–63.
12. Wong VW-S, Adams LA, de Lédighen V, Wong GL-H, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. agosto de 2018;15(8):461–78.
13. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatol Baltim Md*. abril de 2007;45(4):846–54.
14. Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ, Sanyal AJ. USE OF THE FIB4 INDEX FOR NON-INVASIVE EVALUATION OF FIBROSIS IN NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. outubro de 2009;7(10):1104–12.
15. Venkatesh SK, Yin M, Ehman RL. Magnetic resonance elastography of liver: technique, analysis, and clinical applications. *J Magn Reson Imaging JMRI*. março de 2013;37(3):544–55.

16. Petitsclerc L, Sebastiani G, Gilbert G, Cloutier G, Tang A. Liver fibrosis: Review of current imaging and MRI quantification techniques. *J Magn Reson Imaging JMRI*. maio de 2017;45(5):1276–95.
17. Wang X-M, Zhang X-J, Ma L. Diagnostic performance of magnetic resonance technology in detecting steatosis or fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. maio de 2018;97(21):e10605.
18. Lee J, Vaali Y, Boursier J, Spijker R, Anstee Q, Bossuyt P, et al. Prognostic accuracy of FIB-4, NAFLD fibrosis score, and APRI for NAFLD-related events: a systematic review. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 18 de setembro de 2020;41.
19. Xiao G, Zhu S, Xiao X, Yan L, Yang J, Wu G. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Hepatol Baltim Md*. novembro de 2017;66(5):1486–501.
20. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - Abstract - *Obesity Facts* 2016, Vol. 9, No. 2 - Karger Publishers [Internet]. [citado 29 de outubro de 2021]. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/443344>
21. Latin American Association for the study of the liver (ALEH) practice guidance for the diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease - ScienceDirect [Internet]. [citado 29 de outubro de 2021]. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1665268120301770>

22. Dulai PS, Sirlin CB, Loomba R. MRI and MRE for non-invasive quantitative assessment of hepatic steatosis and fibrosis in NAFLD and NASH: Clinical trials to clinical practice. *J Hepatol.* novembro de 2016;65(5):1006–16.
23. Selvaraj EA, Mózes FE, Jayaswal ANA, Zafarmand MH, Vali Y, Lee JA, et al. Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 1º de outubro de 2021;75(4):770–85.
24. Srinivasa Babu A, Wells ML, Teytelboym OM, Mackey JE, Miller FH, Yeh BM, et al. Elastography in Chronic Liver Disease: Modalities, Techniques, Limitations, and Future Directions. *Radiogr Rev Publ Radiol Soc N Am Inc.* dezembro de 2016;36(7):1987–2006.
25. *Practical Statistics for Medical Research.* Chapman & Hall. London, UK: 403 – 407.
26. 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. *Hepatol Baltim Md.* setembro de 2012;56(3):943–51.
27. Yamamura S, Eslam M, Kawaguchi T, Tsutsumi T, Nakano D, Yoshinaga S, et al. MAFLD identifies patients with significant hepatic fibrosis better than NAFLD. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver.* dezembro de 2020;40(12):3018–30.
28. Park H, Yoon EL, Kim M, Kim J-H, Cho S, Jun DW, et al. Fibrosis Burden of Missed and Added Populations According to the New Definition of Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver. *J Clin Med.* 8 de outubro de 2021;10(19):4625.

29. Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *AJR Am J Roentgenol.* dezembro de 2007;189(6):W320-323.

Figure Legends

Figure 1: Flowchart of the study population. MR, magnetic resonance; MRE, magnetic resonance elastography.

Figure 2: ROC curves (A) NAFLD Fibrosis Score and (B) FIB-4 Score. $p < 0.001$.

Figure 3: NAFLD Fibrosis Score for patients euglycemic/non-T2DM ($p = 0.034$) and IFG/T2DM ($p < 0.001$).

Figure 4: FIB-4 Score for patients euglycemic/non-T2DM ($p = 0.016$) and IFG/T2DM ($p < 0.001$).

Complementary data

The analysis of the characteristics of the 60 patients excluded due to the absence of steatosis showed a significant reduction in the prevalence of obesity (from 58.8% to 38.3%) and IFG (from 60.7% to 32.0%). Of these patients, 16 had steatosis in a previous ultrasound examination, most of which had been performed in the previous year, nine in the last 6 months. Six had some degree of fibrosis, all female and over 40 years old, overweight or obese, half of whom had IFG/T2DM and met criteria for metabolic syndrome. Of the 6 patients with fibrosis, 3 had advanced fibrosis (F3-F4), possibly related to patients with a decrease in liver fat with the progression of fibrosis. The rest of the patients did not have previous ultrasound.

CONCLUSÕES

Em conclusão, o NFS e o FIB-4 são ferramentas úteis para orientar a indicação de avaliação hepática adicional em pacientes com DHGNA com ERM, desde os estágios iniciais da fibrose, e este estudo demonstra novos pontos de corte com melhor especificidade e grande sensibilidade para discriminar entre a ausência ou presença de fibrose hepática tanto para a população em geral quanto para pacientes com e sem hiperglicemia/DM2.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Dentre os pontos fortes deste estudo estão o grande número de pacientes incluídos de forma prospectiva, o fato de todos os exames terem sido realizados em um centro com grande experiência em ERM, utilizando o mesmo equipamento, e de todos os exames terem sido analisados pelo mesmo radiologista. Além disso, os exames laboratoriais foram realizados em um laboratório local confiável.

Uma discussão interessante sobre os pacientes excluídos por não terem apresentado esteatose hepática é que quase 30% apresentavam ultrassonografia recente sugerindo esteatose. Isso nos faz questionar a grande variabilidade em acurácia na detecção de esteatose hepática por ultrassonografia e sua taxa de falsos positivos, sendo necessários estudos para determinar critérios diagnósticos mais objetivos, enquanto métodos mais precisos não estão amplamente disponíveis na prática clínica. Outro motivo identificado para a ausência de esteatose nesses pacientes foi que muitos já haviam iniciado tratamento clínico para síndrome metabólica e esteatose, porém não temos dados suficientes para analisar a eficácia dos tratamentos realizados previamente. Além disso, mais de 70% desses pacientes excluídos não apresentava ultrassonografia prévia, considerada pelos *guidelines* atuais o método inicial na avaliação da DHGNA, trazendo à discussão se as etapas diagnósticas estão sendo realmente seguidas na prática clínica.

Durante a fase de construção da dissertação foi alcançado o número final da amostra de 289 pacientes. Foi realizada uma nova análise comparando as duas coortes, ou seja, a de treinamento, com os 183 pacientes aqui incluídos, e a de validação, com todos os 289 pacientes. Na coorte de validação incluímos os pacientes sem esteatose pelo critério da ressonância magnética multiparamétrica do fígado, uma vez que, nos 60 pacientes excluídos nesta análise por não apresentar esteatose, observamos uma porcentagem considerável de obesidade e hiperglicemia, além de uma porcentagem de fibrose próxima

à da amostra com esteatose, o que nos leva a pensar que também são pacientes em risco de fibrose hepática, tanto pelas comorbidades como pelo fato de a esteatose reduzir com a progressão da fibrose, como vimos em três desses seis pacientes.

Também foram incluídos na coorte de validação os pacientes com hepatites virais e que consomem álcool, com base nos critérios de MAFLD. Idealmente deveríamos comparar os resultados dos escores clínicos com ERM e com biópsia hepática para avaliar de que forma a mudança dos critérios diagnósticos de DHGNA para MAFLD impacta na identificação de pacientes com e sem fibrose hepática, porém seria uma análise extensa para ser acrescentada apenas como um dos tópicos deste estudo. Desta forma, torna-se interessante um estudo específico sobre este tema.

Outros temas a serem estudados mais profundamente na população com DHGNA é qual seria a combinação ideal de biomarcadores a ser utilizada na prática clínica para a avaliação de fibrose hepática e quais os pontos de corte ideais para a indicação de avaliação não invasiva de fibrose hepática por ERM já que, apesar do extenso estudo, nossos dados são limitados.

Também são necessários mais estudos sobre a relação custo-eficácia da estratégia de utilizar ERM para o diagnóstico de fibrose hepática desde estágios iniciais e de que forma isso impacta no prognóstica de pacientes com DHGNA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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.* agosto de 2011;34(3):274–85.
2. 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.* 1º de agosto de 2010;53(2):372–84.
3. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016;64(1):73–84.
4. Mahady SE, George J. Predicting the future burden of NAFLD and NASH. *J Hepatol.* 1º de outubro de 2018;69(4):774–5.
5. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med.* dezembro de 2011;43(8):617–49.
6. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathologic Patterns and Biopsy Evaluation in Clinical Research. *Semin Liver Dis.* fevereiro de 2012;32(1):3–13.
7. Arab JP, Arrese M, Trauner M. Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annu Rev Pathol.* 1º de janeiro de 2018;13:321–50.
8. Castellana M, Donghia R, Guerra V, Procino F, Castellana F, Zupo R, et al. Fibrosis-4 Index vs Nonalcoholic Fatty Liver Disease Fibrosis Score in Identifying Advanced

- Fibrosis in Subjects With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol*. 1º de setembro de 2021;116(9):1833–41.
9. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, et al. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J Hepatol*. 1º de dezembro de 2017;67(6):1265–73.
 10. Albhaisi S, Sanyal AJ. Applying Non-Invasive Fibrosis Measurements in NAFLD/NASH: Progress to Date. *Pharm Med*. 1º de dezembro de 2019;33(6):451–63.
 11. Wong VW-S, Adams LA, de Lédighen V, Wong GL-H, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. agosto de 2018;15(8):461–78.
 12. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. abril de 2007;45(4):846–54.
 13. Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ, Sanyal AJ. USE OF THE FIB4 INDEX FOR NON-INVASIVE EVALUATION OF FIBROSIS IN NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. outubro de 2009;7(10):1104–12.
 14. Venkatesh SK, Yin M, Ehman RL. Magnetic resonance elastography of liver: technique, analysis, and clinical applications. *J Magn Reson Imaging JMRI*. março de 2013;37(3):544–55.

15. Petitsclerc L, Sebastiani G, Gilbert G, Cloutier G, Tang A. Liver fibrosis: Review of current imaging and MRI quantification techniques. *J Magn Reson Imaging JMRI*. maio de 2017;45(5):1276–95.
16. Wang X-M, Zhang X-J, Ma L. Diagnostic performance of magnetic resonance technology in detecting steatosis or fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. maio de 2018;97(21):e10605.
17. Lee J, Vaali Y, Boursier J, Spijker R, Anstee Q, Bossuyt P, et al. Prognostic accuracy of FIB-4, NAFLD fibrosis score, and APRI for NAFLD-related events: a systematic review. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 18 de setembro de 2020;41.
18. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or MRE to detect fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis [Internet]. [citado 29 de outubro de 2021]. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/317387013_Comparison_of_laboratory_tests_ultrasound_or_MRE_to_detect_fibrosis_in_patients_with_non-alcoholic_fatty_liver_disease_A_meta-analysis
19. Sebastiani G, Alshaalan R, Wong P, Rubino M, Salman A, Metrakos P, et al. Prognostic Value of Non-Invasive Fibrosis and Steatosis Tools, Hepatic Venous Pressure Gradient (HVPG) and Histology in Nonalcoholic Steatohepatitis. *PloS One*. 2015;10(6):e0128774.
20. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - Abstract - Obesity Facts 2016, Vol. 9, No. 2 - Karger Publishers [Internet]. [citado 29 de outubro de 2021]. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/443344>

21. Latin American Association for the study of the liver (ALEH) practice guidance for the diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease - ScienceDirect [Internet]. [citado 29 de outubro de 2021]. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1665268120301770>
22. Zambrano-Huaila R, Guedes L, Stefano JT, de Souza AAA, Marciano S, Yvamoto E, et al. Diagnostic performance of three non-invasive fibrosis scores (Hepamet, FIB-4, NAFLD fibrosis score) in NAFLD patients from a mixed Latin American population. *Ann Hepatol.* dezembro de 2020;19(6):622–6.
23. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* abril de 2019;156(5):1264-1281.e4.
24. McPherson S, Hardy T, Dufour J-F, Petta S, Romero-Gomez M, Allison M, et al. Age as a Confounding Factor for the Accurate Non-Invasive Diagnosis of Advanced NAFLD Fibrosis. *Am J Gastroenterol.* maio de 2017;112(5):740–51.
25. Siddiqui MS, Vuppalanchi R, Van Natta ML, Hallinan E, Kowdley KV, Abdelmalek M, et al. Vibration-Controlled Transient Elastography to Assess Fibrosis and Steatosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* janeiro de 2019;17(1):156-163.e2.
26. Ajmera V, Loomba R. Imaging biomarkers of NAFLD, NASH, and fibrosis. *Mol Metab.* 15 de janeiro de 2021;50:101167.
27. Nascimbeni F, Lebray P, Fedchuk L, Oliveira CP, Alvares-da-Silva MR, Varault A, et al. Significant variations in elastometry measurements made within short-term in patients

- with chronic liver diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* abril de 2015;13(4):763-771.e1-6.
28. Pereira PF, Von Diemen V, Trindade EN, Michalczuk MT, Cerski CTS, Mussi AC, et al. Are Noninvasive Methods Comparable to Liver Biopsy in Postoperative Patients After Roux-en-Y Gastric Bypass? *Obes Surg.* julho de 2020;30(7):2566–71.
 29. Zhou J-H, Cai J-J, She Z-G, Li H-L. Noninvasive evaluation of nonalcoholic fatty liver disease: Current evidence and practice. *World J Gastroenterol.* 21 de março de 2019;25(11):1307–26.
 30. Dulai PS, Sirlin CB, Loomba R. MRI and MRE for non-invasive quantitative assessment of hepatic steatosis and fibrosis in NAFLD and NASH: Clinical trials to clinical practice. *J Hepatol.* novembro de 2016;65(5):1006–16.
 31. Selvaraj EA, Mózes FE, Jayaswal ANA, Zafarmand MH, Vali Y, Lee JA, et al. Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 1º de outubro de 2021;75(4):770–85.
 32. Fraile JM, Palliyil S, Barelle C, Porter AJ, Kovaleva M. Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) - A Review of a Crowded Clinical Landscape, Driven by a Complex Disease. *Drug Des Devel Ther.* 2021;15:3997–4009.
 33. Lazarus JV, Mark HE, Anstee QM, Arab JP, Batterham RL, Castera L, et al. Advancing the global public health agenda for NAFLD: a consensus statement. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 27 de outubro de 2021;

34. Leddin D, Omary MB, Veitch A, Metz G, Amrani N, Aabakken L, et al. Uniting the Global Gastroenterology Community to Meet the Challenge of Climate Change and Non-Recyclable Waste. *Gastroenterology*. novembro de 2021;161(5):1354–60.
35. Saltzman ET, Palacios T, Thomsen M, Vitetta L. Intestinal Microbiome Shifts, Dysbiosis, Inflammation, and Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Front Microbiol*. 2018;9:61.
36. Meli R, Mattace Raso G, Calignano A. Role of Innate Immune Response in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Metabolic Complications and Therapeutic Tools. *Front Immunol*. 23 de abril de 2014;5:177.
37. Cotrim HP, Oliveira CP, Coelho HSM, Alvares-da-Silva MR, Nabuco L, Parise ER, et al. Nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma: Brazilian survey. *Clinics*. maio de 2016;71:281–4.
38. Jahn D, Kircher S, Hermanns HM, Geier A. Animal models of NAFLD from a hepatologist's point of view. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 1º de maio de 2019;1865(5):943–53.
39. Estes C, Anstee QM, Arias-Loste MT, Bantel H, Bellentani S, Caballeria J, et al. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016-2030. *J Hepatol*. outubro de 2018;69(4):896–904.
40. Manne V, Handa P, Kowdley KV. Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. fevereiro de 2018;22(1):23–37.
41. Masarone M, Federico A, Abenavoli L, Loguercio C, Persico M. Non alcoholic fatty liver: epidemiology and natural history. *Rev Recent Clin Trials*. 2014;9(3):126–33.

42. Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*. março de 2015;239(1):192–202.
43. Azzam H, Malnick S. Non-alcoholic fatty liver disease - the heart of the matter. *World J Hepatol*. 8 de junho de 2015;7(10):1369–76.
44. Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol WJG*. 14 de novembro de 2010;16(42):5286–96.
45. Francque SM, van der Graaff D, Kwanten WJ. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk: Pathophysiological mechanisms and implications. *J Hepatol*. agosto de 2016;65(2):425–43.
46. Younossi ZM, Marchesini G, Pinto-Cortez H, Petta S. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis: Implications for Liver Transplantation. *Transplantation*. janeiro de 2019;103(1):22–7.
47. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. agosto de 2015;149(2):367-378.e5; quiz e14-15.
48. Fakhry TK, Mhaskar R, Schwitalla T, Muradova E, Gonzalvo JP, Murr MM. Bariatric surgery improves nonalcoholic fatty liver disease: a contemporary systematic review and meta-analysis. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. março de 2019;15(3):502–11.
49. de Brito E Silva MB, Tustumi F, de Miranda Neto AA, Dantas ACB, Santo MA, Cecconello I. Gastric Bypass Compared with Sleeve Gastrectomy for Nonalcoholic Fatty

Liver Disease: a Systematic Review and Meta-analysis. *Obes Surg.* junho de 2021;31(6):2762–72.

50. Eslam M, Sanyal AJ, George J, International Consensus Panel. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* maio de 2020;158(7):1999-2014.e1.
51. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål 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 Baltim Md.* maio de 2015;61(5):1547–54.
52. Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, Neuschwander-Tetri BA, Diehl A, Dasarathy S, et al. Prospective Study of Outcomes in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med.* 21 de outubro de 2021;385(17):1559–69.
53. Pennisi G, Celsa C, Giammanco A, Spatola F, Petta S. The Relevance of Noninvasive Tools To Assess Fibrosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Pharm Des.* 2020;26(32):3928–38.
54. Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F. Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol.* setembro de 2009;51(3):433–45.
55. Esterson YB, Grimaldi GM. Radiologic Imaging in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Liver Dis.* fevereiro de 2018;22(1):93–108.
56. Brill F, Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, Orsak B, Freckleton M, Chintapalli K, et al. Clinical value of liver ultrasound for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in

- overweight and obese patients. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. setembro de 2015;35(9):2139–46.
57. Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *AJR Am J Roentgenol*. dezembro de 2007;189(6):W320-323.
58. van der Poorten D, Samer CF, Ramezani-Moghadam M, Coulter S, Kacevska M, Schrijnders D, et al. Hepatic fat loss in advanced nonalcoholic steatohepatitis: are alterations in serum adiponectin the cause? *Hepatology Baltim Md*. junho de 2013;57(6):2180–8.
59. Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, Tsochatzis E, Anstee QM, Sheridan D, et al. Accuracy of FibroScan Controlled Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. maio de 2019;156(6):1717–30.
60. Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, Sirlin CB. Quantitative Assessment of Liver Fat with Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. *J Magn Reson Imaging JMRI*. outubro de 2011;34(4):729–49.
61. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. fevereiro de 2005;288(2):E462-468.
62. Permutt Z, Le T-A, Peterson MR, Seki E, Brenner DA, Sirlin C, et al. Correlation between liver histology and novel magnetic resonance imaging in adult patients with non-alcoholic

- fatty liver disease - MRI accurately quantifies hepatic steatosis in NAFLD. *Aliment Pharmacol Ther.* julho de 2012;36(1):22–9.
63. Tang A, Desai A, Hamilton G, Wolfson T, Gamst A, Lam J, et al. Accuracy of MR imaging-estimated proton density fat fraction for classification of dichotomized histologic steatosis grades in nonalcoholic fatty liver disease. *Radiology.* fevereiro de 2015;274(2):416–25.
 64. Mashhood A, Railkar R, Yokoo T, Levin Y, Clark L, Fox-Bosetti S, et al. Reproducibility of hepatic fat fraction measurement by magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging JMRI.* junho de 2013;37(6):1359–70.
 65. Nouredin M, Lam J, Peterson MR, Middleton M, Hamilton G, Le T-A, et al. Utility of magnetic resonance imaging versus histology for quantifying changes in liver fat in nonalcoholic fatty liver disease trials. *Hepatology Baltim Md.* dezembro de 2013;58(6):1930–40.
 66. Loomba R, Neuschwander-Tetri BA, Sanyal A, Chalasani N, Diehl AM, Terrault N, et al. Multicenter Validation of Association Between Decline in MRI-PDFF and Histologic Response in NASH. *Hepatology Baltim Md.* outubro de 2020;72(4):1219–29.
 67. Di Martino M, Pacifico L, Bezzi M, Di Miscio R, Sacconi B, Chiesa C, et al. Comparison of magnetic resonance spectroscopy, proton density fat fraction and histological analysis in the quantification of liver steatosis in children and adolescents. *World J Gastroenterol.* 21 de outubro de 2016;22(39):8812–9.
 68. Imajo K, Kessoku T, Honda Y, Tomeno W, Ogawa Y, Mawatari H, et al. Magnetic Resonance Imaging More Accurately Classifies Steatosis and Fibrosis in Patients With

Nonalcoholic Fatty Liver Disease Than Transient Elastography. *Gastroenterology*. março de 2016;150(3):626-637.e7.

69. Park CC, Nguyen P, Hernandez C, Bettencourt R, Ramirez K, Fortney L, et al. Magnetic Resonance Elastography vs Transient Elastography in Detection of Fibrosis and Noninvasive Measurement of Steatosis in Patients With Biopsy-Proven Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. fevereiro de 2017;152(3):598-607.e2.
70. Xiao G, Zhu S, Xiao X, Yan L, Yang J, Wu G. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Hepatology*. novembro de 2017;66(5):1486–501.
71. Draijer LG, van Oosterhout JPM, Vali Y, Zwetsloot S, van der Lee JH, van Etten-Jamaludin FS, et al. Diagnostic accuracy of fibrosis tests in children with non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. setembro de 2021;41(9):2087–100.
72. Higuera-de-la-Tijera F, Córdova-Gallardo J, Buganza-Torio E, Barranco-Fragoso B, Torre A, Parraguirre-Martínez S, et al. Hepamet Fibrosis Score in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Patients in Mexico: Lower than Expected Positive Predictive Value. *Dig Dis Sci*. dezembro de 2021;66(12):4501–7.
73. Sharma C, Cococcia S, Ellis N, Parkes J, Rosenberg W. Systematic review: Accuracy of the enhanced liver fibrosis test for diagnosing advanced liver fibrosis and cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*. julho de 2021;36(7):1788–802.
74. Ferraioli G, Wong VW-S, Castera L, Berzigotti A, Sporea I, Dietrich CF, et al. Liver Ultrasound Elastography: An Update to the World Federation for Ultrasound in Medicine

and Biology Guidelines and Recommendations. *Ultrasound Med Biol.* dezembro de 2018;44(12):2419–40.

75. Improved noninvasive prediction of liver fibrosis by liver stiffness measurement in patients with nonalcoholic fatty liver disease accounting for controlled attenuation parameter values - Petta - 2017 - *Hepatology* - Wiley Online Library [Internet]. [citado 27 de novembro de 2021]. Disponível em: <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.28843>
76. Ochi H, Hirooka M, Koizumi Y, Miyake T, Tokumoto Y, Soga Y, et al. Real-time tissue elastography for evaluation of hepatic fibrosis and portal hypertension in nonalcoholic fatty liver diseases. *Hepatology*. outubro de 2012;56(4):1271–8.
77. Bonekamp S, Kamel I, Solga S, Clark J. Can imaging modalities diagnose and stage hepatic fibrosis and cirrhosis accurately? *J Hepatol.* janeiro de 2009;50(1):17–35.
78. Singh S, Venkatesh SK, Loomba R, Wang Z, Sirlin C, Chen J, et al. Magnetic resonance elastography for staging liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease: a diagnostic accuracy systematic review and individual participant data pooled analysis. *Eur Radiol.* maio de 2016;26(5):1431–40.
79. Serai SD, Obuchowski NA, Venkatesh SK, Sirlin CB, Miller FH, Ashton E, et al. Repeatability of MR Elastography of Liver: A Meta-Analysis. *Radiology.* outubro de 2017;285(1):92–100.
80. Srinivasa Babu A, Wells ML, Teytelboym OM, Mackey JE, Miller FH, Yeh BM, et al. Elastography in Chronic Liver Disease: Modalities, Techniques, Limitations, and Future Directions. *Radiogr Rev Publ Radiol Soc N Am Inc.* dezembro de 2016;36(7):1987–2006.

81. Kowdley KV. Iron Overload in Patients With Chronic Liver Disease. *Gastroenterol Hepatol*. novembro de 2016;12(11):695–8.
82. Tomah S, Alkhouri N, Hamdy O. Nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes: where do Diabetologists stand? *Clin Diabetes Endocrinol*. 2020;6:9.
83. Castellana M, Donghia R, Guerra V, Procino F, Castellana F, Zupo R, et al. Fibrosis-4 Index vs Nonalcoholic Fatty Liver Disease Fibrosis Score in Identifying Advanced Fibrosis in Subjects With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis. *Off J Am Coll Gastroenterol ACG*. setembro de 2021;116(9):1833–41.
84. *Practical Statistics for Medical Research*. Chapman & Hall. London, UK: 403 – 407.
85. 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. *Hepatol Baltim Md*. setembro de 2012;56(3):943–51.
86. Yamamura S, Eslam M, Kawaguchi T, Tsutsumi T, Nakano D, Yoshinaga S, et al. MAFLD identifies patients with significant hepatic fibrosis better than NAFLD. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. dezembro de 2020;40(12):3018–30.
87. Park H, Yoon EL, Kim M, Kim J-H, Cho S, Jun DW, et al. Fibrosis Burden of Missed and Added Populations According to the New Definition of Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver. *J Clin Med*. 8 de outubro de 2021;10(19):4625.

ANEXOS

Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Nome do estudo: Avaliação dos fatores associados à presença de fibrose hepática utilizando elastografia por ressonância magnética em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica.

Introdução: A doença hepática gordurosa não-alcoólica é atualmente a principal causa de hepatopatia crônica, tendo uma prevalência mundial de cerca de 20 a 30% da população adulta. A presença de fibrose hepática é um importante marcador para definição de tratamento e prognóstico da doença, sendo que a morbimortalidade aumenta de forma significativa quando há concomitância dessas duas condições.

Convencionalmente, a biópsia tem sido empregada como padrão para avaliação de hepatopatia crônica. Alternativamente, a ressonância magnética é atualmente o método não invasivo de maior acurácia para identificação e quantificação da esteatose, assim como para a detecção e o estadiamento de fibrose através da elastografia.

Devido a alta prevalência da DHGNA e o custo elevado para a realização da ERM, é importante a identificação dos principais fatores de risco e do perfil de paciente que irá evoluir com fibrose hepática e, portanto, maior benefício com o rastreamento sistemático.

Convite e objetivo do estudo: Como você irá realizar o exame "Ressonância Magnética Multiparamétrica do Fígado" no Departamento de Radiologia do Hospital Moinhos de Vento e possui os critérios de inclusão necessários, nós o convidamos a contribuir com a pesquisa intitulada "Avaliação dos fatores associados à presença de fibrose hepática utilizando elastografia por ressonância magnética em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica".

Procedimentos do estudo: Hoje você irá realizar o exame "Ressonância Magnética Multiparamétrica do Fígado" conforme solicitação de seu médico. Durante o exame, com sua autorização através deste termo, será adicionada uma avaliação extra chamada "Elastografia por Ressonância Magnética", que foi desenvolvida para detecção e o estadiamento de fibrose no fígado, sendo atualmente o método não invasivo de maior acurácia para este fim. A elastografia requer que seja acoplado um dispositivo em seu abdômen, o qual será fixado por uma fita colante e irá vibrar, gerando ondas mecânicas que serão analisadas juntos com as imagens da ressonância magnética posteriormente. Não será realizado qualquer procedimento invasivo.

Após o exame, os seus dados clínicos, laboratoriais e de exames de imagem serão inseridos no nosso banco de dados, de forma sigilosa. O resultado da análise será tabulado posteriormente pelo responsável pelo estudo. Você não precisará retornar ao Hospital Moinhos de Vento em nenhum outro momento em virtude desta pesquisa.

Benefícios e riscos: O benefício direto será a avaliação, sem custo extra, da rigidez hepática e detecção de fibrose durante a avaliação da DHGNA. O benefício indireto, com os resultados encontrados, será aumentar o conhecimento existente sobre as condições estudadas, permitindo, no futuro, a otimização da indicação de avaliação do fígado por ERM em pacientes com DHGNA e elevado risco de fibrose hepática, proporcionando tratamento precoce e adequado, a fim de diminuir evolução clínica desfavorável.

Não há risco aos participantes na realização do exame, visto que a ressonância magnética não emite radiação ionizante e não será realizada administração de meio de contraste.

A segurança do paciente será continuamente monitorada pelos pesquisadores.

Custos: A participação no estudo não acarreta nenhum custo adicional para você. O tempo de sala, honorários médicos e uso de material para os fins do estudo ficarão a cargo do Departamento de Radiologia do Hospital Moinhos de Vento.

Participação voluntária: A sua participação é absolutamente voluntária. A sua decisão de não participar no estudo em nada afetará o seu atendimento no hospital. Você pode desistir de participar do estudo a qualquer momento.

Privacidade e Confidencialidade: Em momento algum o seu nome será revelado. As informações utilizadas para publicação não permitirão que você seja identificado em nenhum momento. Os dados serão utilizados apenas pela equipe do estudo e autoridades regulatórias da área da saúde. Os autores conhecem as recomendações da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Contatos: Não hesite em entrar em contato conosco.

Dra. Louise Torres – caso ocorra alguma dúvida sobre o exame ou sobre o estudo.

E-mail: louisetrs@gmail.com

Telefone: (51) 997973438

Comitê de Ética em Pesquisa da Associação Hospitalar Moinhos de Vento - sob coordenação Dr. Guilherme Alcides Flores Rollin – para questões sobre a pesquisa e sobre os direitos dos pacientes envolvidos ou sobre problemas decorrentes da pesquisa.

Rua Tiradentes, 198 - Subsolo. Bairro: Floresta, Porto Alegre - RS. CEP: 90560-030.

Telefone: (51) 3314-3537

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Rua Ramiro Barcelos, 2350 - 2º andar do HCPA, sala 222. Bairro: Santa Cecília, Porto Alegre - RS. CEP: 90035-007. Telefone: (51) 3359-7640

Ao assinar abaixo, você confirma que leu as afirmações contidas neste termo de consentimento, que foram explicados os procedimentos do estudo, que teve a oportunidade de fazer perguntas, que está satisfeito com as explicações fornecidas e que decidiu participar voluntariamente deste estudo. Uma via será entregue a você e outra será arquivada pelo investigador principal.

Nome do voluntário:

Assinatura do voluntário:

Nome do responsável:

Assinatura do responsável:

Data:

Questionário aplicado ao paciente

Prezado cliente,

As informações referidas neste questionário são importantes tanto para a execução quanto para a interpretação do seu exame. Elas são confidenciais e serão utilizadas somente pela equipe técnica e pelos médicos do serviço. Você não é obrigado a respondê-lo, no entanto, o melhor resultado possível só será conseguido com as informações abaixo.

Nome do paciente:

1) Qual o motivo do seu exame?

- Exame anterior alterado:
 - Esteatose
 - Depósito de ferro no fígado
 - Alteração de exame laboratorial (enzimas hepáticas)
 - História familiar de ferro no fígado
 - História de Hepatite C
 - História de Hepatite B
 - Seguimento de doença de depósito já em tratamento
 - Outro motivo:
-

2) Você já fez biópsia do fígado?

Não Sim

Quando foi a biópsia? _____

Você trouxe o resultado? Não Sim

3) Você já avaliou fibrose do fígado por exame não-invasivo?

Não Sim.

Se sim, qual:

Fibroscan.

Elastografia por ressonância magnética.

Elastografia por ultrassom (ecografia).

Você trouxe o resultado? Não Sim

4) Você tem alguma doença? Qual (ais)?

Diabetes (tipo 1 tipo 2)

Hipertensão

Dislipidemia (colesterol aumentado)

Hepatites virais B e/ou C

Hemocromatose (acúmulo de ferro no sangue)

Outras:

5) Você usa alguma medicação? Qual (ais)?

6) Você já fez ressonância do abdômen?

Não Sim

Quando? _____ (mês e/ou ano)

Onde? No Hospital Moinhos Em outro lugar

Se realizado em outro serviço, você trouxe os laudos/imagens anteriores? Não Sim

7) Você já fez alguma cirurgia no abdômen?

Não Sim

Em que região?

8) Você trouxe exames laboratoriais?

HDL:

TG: Glicemia de jejum:

AST:

ALT

Albumina:

Plaquetas:

Assinatura do Paciente ou Responsável