



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL**

**DINA FERNANDES NETO**

***FÍGADO GORDO NÃO ALCÓOLICO E OBESIDADE EM IDADE  
PEDIÁTRICA: RASTREIO, DIAGNÓSTICO E MONITORIZAÇÃO***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA**

**Trabalho realizado sob a orientação de:**

**Dr.<sup>a</sup> RAQUEL SOARES**

**PROFESSORA DOUTORA GUIOMAR OLIVEIRA**

**Março/2018**

## Sumário

Resumo.....	1
Abstract .....	3
Siglas e Acrónimos.....	5
Introdução.....	7
Materiais e Métodos .....	10
Patogénese e Conceitos Gerais.....	11
Identificação e diagnóstico do FGNA.....	15
Transaminases .....	15
Ecografia abdominal.....	17
Outros marcadores para identificação do FGNA .....	20
Biópsia hepática.....	24
Ressonância Magnética .....	27
Tomografia Axial Computorizada.....	29
<i>Scores</i> clínicos para avaliação do FGNA .....	29
Recomendações para rastreio, diagnóstico e monitorização do FGNA.....	32
Conclusão .....	37
Agradecimentos.....	39
Referências Bibliográficas .....	40

## Resumo

**Introdução:** A frequência do fígado gordo não alcoólico (FGNA) tem evoluído paralelamente ao aumento da prevalência da obesidade em idade pediátrica, sendo atualmente a hepatopatia mais comum. Na maioria dos casos verifica-se apenas a presença de esteatose, podendo reverter, porém em alguns casos pode evoluir para esteatohepatite, fibrose e culminar com doença hepática em estadio terminal levando à necessidade de transplante hepático. A prevalência da obesidade infantil justifica a necessidade de identificação desta comorbilidade, e a sua monitorização.

**Objetivo:** Analisar qual a melhor abordagem em termos de rastreio, diagnóstico e monitorização do FGNA em crianças e adolescentes com obesidade através de uma revisão da literatura.

**Materiais e métodos:** Recolha de artigos nos motores de pesquisa Pubmed / Embase, Index – revistas médicas portuguesas, Clinical Evidence e Uptodate dos últimos 10 anos. Os critérios de inclusão adicionais foram estudos aplicados a humanos entre os 0 e os 18 anos, nos idiomas português, inglês, espanhol e francês.

**Resultados:** O mecanismo fisiopatológico e a história natural do FGNA nas crianças e nos adolescentes com obesidade não são ainda bem conhecidos. As formas mais utilizadas para o seu rastreio são o doseamento da alanina aminotransferase (ALT) e a ecografia abdominal convencional. Para o diagnóstico e sua monitorização, as diferentes técnicas de ressonância magnética (RM) são as que apresentam maior acuidade, no entanto a biópsia hepática continua a ser o *gold-standard* para o diagnóstico. Outros marcadores laboratoriais e genéticos, bem como as técnicas de ecografia quantitativa (avaliação do coeficiente de retrodispersão), elastografia transitória, elastografia por impulso de força de radiação acústica (*acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography*), a RM com o cálculo da fração de gordura baseada na densidade de prótons (*proton density fat fraction (PDFF)*), elastografia

por RM e espectroscopia por RM, são apresentados como potencialmente úteis no auxílio ao diagnóstico e sua monitorização. As diferentes *guidelines* internacionais não são consensuais relativamente à vigilância do FGNA nas crianças e nos adolescentes com obesidade.

Conclusão: A ALT e a ecografia abdominal convencional deverão constituir a abordagem inicial no estudo do FGNA, seguindo-se a confirmação do diagnóstico por RM ou biópsia hepática para estudo histológico. A monitorização poderá ser feita através da combinação de marcadores laboratoriais e diferentes técnicas ecográficas ou de RM. É unânime a necessidade de conseguir chegar a um consenso em relação à abordagem do FGNA, sendo necessários mais estudos que permitam não só um melhor conhecimento da sua história natural, como da aplicabilidade dos atuais e promissores meios complementares para rastreio, diagnóstico e monitorização.

**Palavras-chave:** Fígado Gordo Não Alcoólico, obesidade em idade pediátrica, rastreio, diagnóstico, monitorização.

## **Abstract**

**Background:** The frequency of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is evolving in a parallel with the increased prevalence of obesity in the pediatric age group and is currently the most common liver disease. In most cases, the presence of steatosis can be reversed, but in others can progress to steatohepatitis, fibrosis and culminate with terminal liver disease, leading to the need for liver transplantation. The prevalence of childhood obesity justifies the need to identify this comorbidity and its monitoring.

**Aim:** To analyze the best approach on screening, diagnosis and monitoring of NAFLD in obese children and adolescents, through a literature review.

**Materials and methods:** Collection of articles in databases Pubmed / Embase, Index – revistas médicas portuguesas, Clinical Evidence and Uptodate of the last 10 years. The additional inclusion criteria were studies applied to humans between 0 and 18 years old, written in Portuguese, English, Spanish and French.

**Results:** The pathophysiological mechanism and the natural history of NAFLD in obese children and adolescents are not yet well understood. The most widely used methods for screening are alanine aminotransferase (ALT) assay and conventional abdominal ultrasound. For the diagnosis and monitoring, the different techniques of magnetic resonance (MR) have got greater acuity, however the liver biopsy remains the gold standard for the diagnosis. Other laboratory and genetic markers, as well as the quantitative ultrasound techniques (backscatter coefficient evaluation), transient elastography, acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography, the MR Imaging with proton density fat fraction (PDFF), MR elastography and the MR spectroscopy, are presented as potentially useful to help on diagnosis and monitoring. The different international guidelines are not consensual regarding the surveillance of NAFLD in obese children and adolescents.

Conclusion: ALT and conventional abdominal ultrasound should be an initial approach to NAFLD, that must be confirmed by MR techniques or biopsy for histological study. Monitoring can be done by combining laboratory markers and different ultrasound or MR techniques. It is unanimous the need of a consensus to NAFLD approach, and further studies are needed to allow a better understanding of its natural history, as well as the applicability of current and promising complementary methods for screening, diagnosis and monitoring.

**Key words:** Nonalcoholic Fatty Liver Disease, pediatric obesity, screening, diagnosis, monitoring, management.

## **Siglas e Acrónimos**

AASLD/ACG/AGA - *The American Association for Study of Liver Disease, American College of Gastroenterology and the American Gastroenterology Association*

ALT - Alanina aminotransferase

ARFI - *Acoustic radiation force impulse*

AST - Aspartato aminotransferase

DGE-MRI - *Dual gradient echo-magnetic resonance imaging*

DM - *Diabetes mellitus*

FLI - *Fatty Liver Index*

EASD - *European Association of Diabetes*

EASL - *European Association for the Study of the Liver*

EASO - *European Association for the Study of Obesity*

ELF - *Enhanced Liver Fibrosis*

ESPGHAN - *European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*

FGNA - *Fígado Gordo Não Alcoólico*

FLIP - *Fatty liver inhibition of progression*

$\gamma$ -GT - Gama-glutamilttransferase

HbA1C - Hemoglobina glicosilada

HMGB1 - *High mobility Group Box 1*

HOMA-IR - *Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*

HSI - *Hepatic Steatosis Index*

IMC - *Índice de Massa Corporal*

INR - *International Normalized Ratio*

KLF6 - *Kruppel-like factor 6*

LAP - *Liver Accumulation Product*

LPIN1 - Lipina 1

NAFLD - *Nonalcoholic fatty liver disease*

NAS - *NAFLD Activity Score*

NASH - *Nonalcoholic steatohepatitis*

NASPGHAN - *North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*

NHANES - *National Health and Nutrition Examination*

NICE - *UK National Institute for Care and Health Excellence*

PCR - *Proteína C reativa*

PDFF - *Proton density fat fraction*

PNFI - *Pediatric NAFLD Fibrosis Index*

PNHS - *Pediatric NAFLD Histological Score*

PNPLA3 - *Palatin-like phospholipase 3*

RBP4 - *Retinol binding protein 4*

RM - *Ressonância Magnética*

SAF - *Steatosis, activity, fibrosis*

SAFETY - *Screening ALT for Elevation in Today's Youth*

SNP - *Single Nucleotide Polymorphism*

SOD2 - *Superóxido dismutase 2*

## Introdução

O Fígado Gordo Não Alcoólico (FGNA) consiste numa entidade patológica, englobando o espectro da doença hepática crónica resultante da acumulação de macrovesículas de lípidos nos hepatócitos, não associado a outras causas conhecidas, como: genéticas, metabólicas, infecciosas, farmacológicas, associadas ao consumo de álcool ou à desnutrição. Este espectro engloba a esteatose, a esteatohepatite e a fibrose hepática. (1-6)

Este termo foi utilizado pela primeira vez em 1952 em indivíduos adultos, (7) e em 1979 foram reportados os primeiros casos de doença hepática crónica associada à obesidade. (8) Em idade pediátrica o conceito surgiu pela primeira vez em 1983, por Moran *et al.*, estando este também associado à obesidade. (9)

A esteatose caracteriza-se por alterações adiposas hepáticas decorrentes da acumulação de gordura, atingindo pelo menos 5% dos hepatócitos, sem outras lesões associadas. Na maioria dos casos não agrava, podendo reverter espontaneamente. Em algumas situações pode estar associada à presença de um número reduzido de células inflamatórias, ou alterações ligeiras dos hepatócitos sem alteração no seu tamanho, com potencial de evolução para esteatohepatite. (10) Esta última corresponde à presença de esteatose acompanhada de inflamação hepatocelular aguda e crónica, balonização hepática e corpos hialinos de *Mallory*, sendo precursora da fibrose. Estando a fibrose instalada, pode evoluir para cirrose, carcinoma hepatocelular e doença hepática terminal, culminando com a necessidade de transplante hepático. (2, 3, 11-14) De facto, a esteatohepatite não alcoólica tornou-se a segunda principal causa da necessidade de transplante hepático no adulto jovem. (15,16)

Não é conhecida com precisão a prevalência do FGNA, quer em adultos quer em crianças, o que faz com que a sua importância nos cuidados de saúde seja pouco reconhecida e insuficientemente estudada. (17) Emma L. Anderson *et al.* (2015), numa revisão sistemática com meta-análise verificou que o FGNA em idade pediátrica atinge 11,0% da população

geral. (17) Na população pediátrica com excesso de peso este valor sobe para 27,5%, (17) podendo ir até aos 80,0% nas crianças obesas. (3)

Atualmente são conhecidos vários fatores que contribuem para o aparecimento do FGNA, como a idade (a prevalência aumenta a partir da puberdade), o sexo masculino, a raça (crianças hispânicas, asiáticas e algumas comunidades indígenas americanas), e a obesidade. (18)

A obesidade é de facto o principal fator de risco para o desenvolvimento do FGNA, aumentando o risco em cerca de 5 a 6 vezes. (19) O aumento da prevalência do FGNA reflete o aumento observado da obesidade infantil em todo o mundo nas últimas décadas, (2-5,18) sendo a alteração metabólica mais frequentemente encontrada neste grupo. (2,4-6,13,20-22)

A nível mundial, 18,0% das crianças entre os 5 e os 19 anos apresentam excesso de peso ou obesidade. (23) Segundo o *Childhood Obesity Surveillance Initiative / World Health Organization Regional Office for Europe*, Portugal é um dos cinco países europeus com maior prevalência de excesso de peso e obesidade entre os 7 e os 9 anos, 17,7% e 13,9% respetivamente, perfazendo um total de 31,6%. (24) A prevalência da obesidade infantil justifica deste modo a necessidade de uma correta, precoce e económica abordagem das crianças e adolescentes obesos, sendo esta uma população de risco importante para FGNA.

Os grandes objetivos do tratamento do FGNA são a regressão da esteatose nas fases iniciais e a resolução da esteatohepatite quando presente. A estratégia é a intensificação da intervenção na implementação de um estilo de vida saudável, (alimentação e exercício físico), pois os fármacos disponíveis ainda não demonstraram benefícios efetivos. A cirurgia bariátrica pode ser benéfica em determinadas situações.

Os estudos nesta área são limitados, sendo consequência das lacunas a nível do rastreio e do diagnóstico. (25)

O objetivo desta revisão narrativa é analisar qual a melhor abordagem na prática clínica em termos de rastreio, diagnóstico e monitorização do FGNA em crianças e adolescentes com obesidade.

## **Materiais e Métodos**

A pesquisa principal foi realizada nos motores de busca *Pubmed / Embase*. Menos exaustivamente, alguns artigos foram também recolhidos nos motores de pesquisa: *Index – revistas médicas portuguesas, Clinical Evidence e Uptodate*. Referências revelantes dos artigos incluídos foram também manualmente pesquisadas.

Os critérios de inclusão dos artigos selecionados foram: artigos dos últimos 10 anos (o artigo mais antigo é de 1952, apenas utilizado para referência histórica), aplicados a humanos com idades compreendidas entre os 0 e os 18 anos, nos idiomas português, inglês, espanhol e francês.

Nas equações de pesquisa foram utilizadas as palavras-chave e respetivos termos MESH: “*nonalcoholic fatty liver disease*”, “*pediatric obesity*”, “*obese child\**”, “*obese pediatric age*”, “*screening*”, “*diagnosis*”, “*monitoring*”, “*management*”. Não foi colocada restrição ao tipo de estudo.

O número total de artigos pesquisados foram 866, onde através da eliminação dos duplicados e análise do título e resumo permaneceram 184 artigos. Destes, foram excluídos 33 devido a: estudos aplicados na população não obesa; estudos aplicados a outras doenças hepáticas crónicas; estudos com metodologias que não vão de encontro com os objetivos da revisão e estudos que focam apenas o tratamento. O número de artigos lidos integralmente e utilizados na revisão foram 151.

## Patogénese e Conceitos Gerais

O mecanismo de desenvolvimento do FGNA nos obesos em idade pediátrica não é ainda bem compreendido. Sabe-se que a gordura visceral contribui para um conjunto de alterações metabólicas, nomeadamente hiperinsulinemia, insulinoresistência, hiperglicemia e dislipidemia. Destes, a insulinoresistência é o fator que mais contribui para o desenvolvimento do FGNA. Esta leva ao aumento da neoglicogénese e desregulação da lipogénese hepáticas, com aumento da síntese de ácidos gordos e esterificação em triglicéridos. Também contribui para a apoptose hepatocelular e para a progressão da esteatose para a inflamação e fibrose hepáticas. (1,18) Considera-se o FGNA como a manifestação hepática da síndrome metabólica. (2-5,13,26,27) A maioria dos estudos recentes revela que a insulinoresistência e a Diabetes *mellitus* (DM) tipo 2 são mais frequentes nas crianças obesas com FGNA. (28-31) Pelo referido anteriormente, para identificar a população de risco para o desenvolvimento do FGNA é importante avaliar o perfil lipídico, os níveis de glicose e de insulina em jejum, a Hemoglobina glicosilada (HbA1C) e a avaliação da insulinoresistência. Outros doseamentos estão indicados como: fosfatase alcalina, gama-glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT), tempo de protrombina, *International Normalized Ratio* (INR), albumina, bilirrubina, plaquetas, transferrina e ferritina. (2,3,11,14,22,32) Estes são marcadores indiretos da função hepática, não sendo marcadores de gravidade. (18,33)

Existe escassez de estudos que avaliam a história natural do FGNA na criança e no adolescente, não estando definido o tempo de progressão dos seus diferentes espectros. Por outro lado, nem todos os casos de esteatose progridem para esteatohepatite e fibrose. Apenas 25,0% das crianças e dos adolescentes com FGNA é que progridem. (1) Siddharth Singh *et al.* (2015), através de uma revisão sistemática e meta-análise verificou que nos adultos com esteatose, a progressão para fibrose ocorre em 14,3 anos, e se a esteatohepatite estiver presente ocorre em 7,1 anos. (10,34) Num dos poucos estudos na criança, Feldstein *et al.*

(2009), seguiu durante 20 anos 66 crianças com diagnóstico de FGNA e verificou que 4 apresentaram fibrose, 2 necessitaram de transplante e 2 faleceram com cirrose. (35) Por outro lado, Kohli *et al.* (2010), publicou 2 casos clínicos de crianças com FGNA, que evoluíram em 3 a 5 anos para fibrose. (36) O caso registrado mais precoce de cirrose na criança foi o de uma criança com 8 anos. (37)

Apesar do caso mais precoce de FGNA registrado tenha 2 anos de idade, verifica-se que é durante a adolescência que existe maior prevalência de FGNA associado à obesidade. (3,5,38) Existem várias razões para este fenómeno. Durante a fase pré-púbere iniciam-se um conjunto de alterações hormonais (adrenarca, aumento das hormonas sexuais e da hormona de crescimento) responsáveis pelas alterações físicas e laboratoriais que ocorrem durante a puberdade, nomeadamente um rápido crescimento da gordura corporal e algum grau de insulinoresistência. (39) Raramente o FGNA surge abaixo dos 8 anos, (38) e nestes casos devem ser consideradas outras etiologias na sua base. (1,37,40,41)

Em todas as idades verificou-se que o FGNA é duas vezes mais frequente no sexo masculino. (2,4,5,17) Constatou-se que os estrogénios têm um efeito protetor contrariamente aos androgénios no aparecimento do FGNA. (3) O sexo masculino tem também maior tendência para apresentar gordura visceral. (42) No entanto quando o FGNA está presente no sexo feminino, este é mais agressivo estando associado à presença de outras comorbilidades. (31)

Em relação à raça, verifica-se que o FGNA é mais frequente nas crianças obesas hispânicas (principalmente do México), asiáticas e de algumas comunidades indígenas americanas, do que nas crianças obesas caucasianas, dependendo não só de bases genéticas, mas também do ambiente sociocultural. (3-6,43)

A alimentação também contribui para o desenvolvimento do FGNA. Durante a fase da adolescência inicia-se um processo de maior autonomia alimentar, verificando-se por vezes

más opções e um estilo de vida sedentário. (2-4,13,44,45) O consumo de alimentos ricos em colesterol leva a um excesso de produção de ácidos gordos e à sua acumulação intrahepática. (13,18) Também o consumo excessivo de frutose (associada aos sumos) mostrou ser um fator independente para o desenvolvimento do FGNA. (46) Num estudo realizado por Jin *et al.* (2012), verificou-se que a frutose é pró-dislipidémica, pelo facto de esta ser um substrato para a lipogénese hepática, inibindo a  $\beta$ -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos de cadeia longa. (47) O efeito nefasto da frutose é exacerbado quando combinada com uma dieta hiperlipídica. (4-6,13,18,48,49) O consumo de leite materno tem um efeito protetor no desenvolvimento da obesidade e do FGNA em idade pediátrica. (4-6,48-51)

Também crianças com baixo peso à nascença, associado a uma recuperação rápida, (4, 5,13,48,52) e crianças filhas de mães com diabetes gestacional ou de mães com excesso de peso/obesas têm maior tendência para desenvolver obesidade em idade pediátrica e consequentemente FGNA. (53,54)

A história familiar é também muito importante. Schwimmer *et al.* (2009), verificou que existe associação entre a obesidade e a presença de FGNA nos pais, e o risco dos filhos obesos virem a desenvolver FGNA. (4,5,21,55,56)

Os parâmetros antropométricos são muito úteis para avaliar as crianças e os adolescentes com risco, sendo de fácil aplicação, baixo custo e não é necessário um treino especializado para a sua utilização. (19) Para além do Índice de Massa Corporal (IMC), outro parâmetro que deve ser aplicado é o perímetro abdominal, pois revelou ter um papel mais eficaz na identificação das crianças e dos adolescentes com risco de desenvolver FGNA do que o IMC. (4,18,19,57-59) A. R. Dâmaso *et al.* (2008), verificou que por cada acréscimo de um centímetro do perímetro abdominal aumenta o risco em 1,97 no sexo masculino e em 2,08 no sexo feminino de desenvolver FGNA, (60,61) corroborando as conclusões de Lin *et al.* (2010). (59) Não existem, porém, percentis definidos para valores de perímetro abdominal

considerados de risco. (4,5,19) A relação perímetro abdominal/altura é um parâmetro que se relaciona de forma independente com o valor da alanina aminotransferase (ALT) como foi comprovado num estudo transversal realizado por Hirokata Ochiai *et al.* (2015), com 2.499 crianças japonesas entre os 9 e os 10 anos. (62) Igualmente úteis poderão ser as pregas cutâneas. (63) A evolução da espessura da prega suprailíaca a partir dos 3 anos de idade, (64) assim como a prega subescapular, (65) demonstraram ser fatores independentes para o desenvolvimento do FGNA nos adolescentes. Nihal Hatipoğlu *et al.* (2016), num estudo transversal com 248 crianças e adolescentes obesos submetidos ao diagnóstico ecográfico de FGNA, verificou que o perímetro do pescoço é também indicador da acumulação de gordura na metade superior do corpo, sendo um preditor da presença de FGNA, para além de ser um marcador de risco metabólico. (66)

No exame físico das crianças e dos adolescentes com FGNA pode encontrar-se hepatomegália, esplenomegália e acantose *nigricans*, esta última sinal de insulinoresistência. (2,4-6,14,37,67)

O FGNA é na maioria dos casos assintomático, mas algumas crianças e adolescentes experienciam dor abdominal, fadiga, câibras musculares, cefaleias, irritabilidade e dificuldade de concentração. (2,4-6,14,37,67) Crianças e adolescentes com FGNA têm níveis mais elevados de depressão. (68-70) Sinais e sintomas de síndrome de apneia obstrutiva do sono também são frequentes. (6,40,71-73)

## Identificação e diagnóstico do FGNA

O facto da prevalência do FGNA não ser adequadamente conhecida deve-se, em parte, às diferentes metodologias de rastreio utilizadas no seu estudo. (17,18)

As duas técnicas mais utilizadas para rastreio são o doseamento das transaminases e a ecografia abdominal convencional, sendo ainda a biópsia o *gold-standard* de diagnóstico. Porém outros exames complementares poderão ser úteis como veremos seguidamente.

### Transaminases

As transaminases, particularmente a ALT, são doseamentos acessíveis e baratos, muito utilizadas na prática clínica para rastreio. Têm porém baixa sensibilidade, pois podem apresentar valores normais em crianças e adolescentes com diagnóstico histológico de FGNA. (6,18) O estudo *The National Health and Nutrition Examination Survey study* (NHANES) (2007), verificou que, na população analisada, apenas 8,0% das crianças e dos adolescentes com FGNA apresentavam o valor das transaminases elevado. (74) Num estudo de coorte europeu com 16.390 crianças e adolescentes com excesso de peso e obesidade, daquelas que apresentavam FGNA, apenas 11,5% apresentavam aumento das transaminases. (75) Também não estão completamente definidos quais os valores que se consideram de risco, nem qual a influência do sexo, idade e raça nesse doseamento. (17)

Foram inicialmente considerados de risco para a população pediátrica valores superiores a 35-45 U/L. (5,45,76) England *et al.* (2009), considerou valores superiores a 60 U/L para o sexo masculino e a 55 U/L para o sexo feminino, nos primeiros 18 meses de vida, e valores acima de 40 U/L e acima de 35 U/L, respetivamente, em idades superiores a 18 meses. (77,78) Colantonio DA *et al.* (2012), considerou os valores da ALT acima de 30 U/L para crianças entre 1 e os 12 anos e acima de 24 U/L entre os 13 e os 19 anos.(5,25,79,80) Outros autores, nas crianças com 10 ou mais anos, valorizam apenas valores duas vezes acima

do normal, que é considerado 50 U/L no sexo masculino e 44 U/L no feminino. (25) No entanto através do estudo *The Screening ALT for Elevation in Today's Youth* (SAFETY) realizado por Schwimmer *et al.* (2010), verificou que valores de 25,8 U/L para o sexo masculino e 22,1 U/L para o feminino, apresentam maior sensibilidade, apesar da menor especificidade, confirmando a conclusão do estudo NHANES (2007). (5,74,80) Diminuindo o valor de risco da ALT verifica-se o aumento de casos falso-positivos, o que poderá não ser aceitável em contexto de rastreio. Neste contexto, a maioria dos estudos considera de risco valores da ALT superiores a 30-40 U/L dado apresentarem uma sensibilidade de 50,0% e uma especificidade de 90,0%. (15)

Um parâmetro que pode ser importante ter em conta é a relação aspartato aminotransferase/alanina aminotransferase (AST/ALT). Esta é inferior a um na maioria das patologias hepáticas, incluindo no FGNA. (2,3,17,22,45,77) Uma relação AST/ALT superior a um é indicador de fibrose hepática, (2,3,17,22,45), no entanto tem baixa sensibilidade e especificidade. (77,81,82)

O FGNA é um diagnóstico de exclusão, existindo outras patologias associadas ao aumento das transaminases e que originam esteatose hepática que terão de ser excluídas como: hepatite C, hepatite auto-imune, efeitos adversos a fármacos, doença de Wilson, deficiência de  $\alpha$ 1-antitripsina, anomalias congénitas, doenças lisossomais e do peroxissoma, fibrose quística, doença celíaca, distrofias musculares, doenças metabólicas, entre outras. (3, 5,77) Estas patologias podem corresponder a 20 a 30% das hepatopatias presentes na idade pediátrica, mas a principal causa para o aumento das transaminases neste grupo é o FGNA associado à obesidade. (77)

No caso de diagnóstico de FGNA associado à obesidade, as transaminases devem ser novamente doseadas quando estas crianças ou adolescentes perderem 10,0% do peso. (77)

Quanto mais elevado o nível das transaminases, maior será o grau de esteatose, (45) uma vez que o valor das transaminases está relacionado com o grau de infiltração de lípidos e com a inflamação, mas é inconsistente com o grau de fibrose. (17) Ana Mayra Oliveira *et al.* (2009), verificou uma correlação positiva entre os valores elevados da ALT e hipertrigliceridemia com o risco de evolução para a esteatohepatite. (5,83) A elevação das transaminases, a hipercolesterolemia e a hiperinsulinemia não se mostraram preditores independentes de fibrose. (2,3,11,13,21)

Portanto, apesar da utilidade do doseamento da ALT para o rastreio do FGNA, esta não pode ser usada como método único. (15)

### **Ecografia abdominal**

A ecografia abdominal convencional é o exame imagiológico mais utilizado para o rastreio do FGNA, dada a sua inocuidade e o seu baixo custo (84) Mostra a presença de esteatose pela visualização de um fígado hiperecogénico através do índice hépato-renal (razão entre o brilho hepático e o brilho do rim direito). (85) Objetiva também eventual hepatomegália (4-6,12,18,86,87) e a distribuição da gordura hepática. (86) No entanto é um método com limitações. Apesar de apresentar uma boa sensibilidade e especificidade na deteção de esteatose moderada a severa, não diagnostica a esteatose ligeira, pois só a identifica quando existe um compromisso dos hepatócitos superior a 30,0%. Também não identifica esteatohepatite nem fibrose. A sua acuidade diminui ainda mais significativamente se o IMC for superior a 40 Kg/m<sup>2</sup>. Por outro lado, a precisão dos seus resultados é operador e máquina dependente, não sendo também um método de avaliação quantitativo. (2-6,14,17,32, 87) Verificou-se ainda, que apresenta maior acuidade de deteção do FGNA em crianças e adolescentes obesos na puberdade do que na pré-puberdade. (86)

A ecografia abdominal convencional mostra-se também útil para a monitorização da evolução do FGNA, principalmente após a intervenção terapêutica. (5,12,14,40) Ainda, a realização do eco-doppler ao permitir detetar alterações do fluxo vascular hepático (diminuição da *compliance* vascular), é um ponto a favor da presença de FGNA possibilitando também a vigilância da sua evolução. (22,40,88)

Para o diagnóstico do FGNA são recomendados métodos de ecografia quantitativa, que medem o coeficiente de retrodispersão e o coeficiente de atenuação. Jeremy S. Paige *et al.* (2017), através da realização de um estudo transversal na população adulta com diagnóstico de FGNA confirmado com estudo histológico do tecido hepático, avaliou o seu papel relativamente à ecografia abdominal convencional, comparando-os também com a ressonância magnética (RM), onde se verificou que os parâmetros anteriormente referidos ajudam a classificar os diferentes graus de esteatose, contrariamente à ecografia abdominal convencional. O coeficiente de retrodispersão demonstrou ter maior acuidade que o coeficiente de atenuação. A ecografia quantitativa elimina o viés que depende do operador e da máquina. Apesar de tudo, a RM apresentou maior acuidade diagnóstica que os métodos de ecografia quantitativa. (89)

Para monitorização da evolução do FGNA as técnicas de ecografia mais descritas são a elastografia transitória (*vibration-controlled transiente elastography, FibroScan<sup>®</sup>*) e a elastografia por impulso de força de radiação acústica (*acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography*). Outras também referidas são: a elastografia supersónica por onda de cisalhamento (*supersonic shear wave elastography*) e a elastografia em tempo real (*real time tissue elastography*). (87)

A elastografia transitória (FibroScan<sup>®</sup>) corresponde a um método de imagem ecográfico operador independente que mede a rigidez tecidual, sendo útil na deteção da fibrose. (2,5,90) É uma técnica que apresenta resultados imediatos, é fácil de aplicar e não é

muito onerosa. (91) É útil não apenas na monitorização, como também poderá ser útil no diagnóstico não invasivo da esteatose, se à técnica de elastografia transitória se adicionar a medição do parâmetro de atenuação controlada, permitindo assim simultaneamente identificar a esteatose, quantificá-la e verificar se já existe fibrose. (10,14,87,90) O parâmetro de atenuação controlada apresenta uma boa acuidade como demonstrou Giovanna Ferraioli *et al.* (2017). (92) No entanto, Wah-Kheong Chan *et al.* (2014), num estudo de coorte avaliando 105 indivíduos acima dos 18 anos com diagnóstico de FGNA realizado por ecografia, e confirmada por biópsia hepática, verificou que a elastografia transitória combinada com o parâmetro de atenuação controlada é útil na deteção da esteatose, mas não distingue os diferentes estádios da mesma, tendo maior acuidade nos indivíduos sem obesidade. Apresenta também uma boa acuidade para detetar alterações após a introdução da terapêutica, como comprovou Imeke Goldschmidt *et al.* (2015), ao avaliar com esta técnica, as alterações hepáticas após 12 meses de intervenção no estilo de vida através do programa “KICK”, em 39 crianças e adolescentes obesos entre os 8 e os 17 anos e 85 crianças e adolescentes controlos saudáveis. (93) Esta pode ser útil para detetar a regressão da esteatose para níveis insignificantes, sendo difícil de detetar por outras técnicas. (94) A elastografia transitória é muito influenciada pelo valor do IMC; quanto mais elevado este for, maior será a dificuldade na sua aplicação dada a interferência da gordura subcutânea. (6,14,90) Na tentativa de colmatar esta falha, apresenta três provas: a S, a M (*standard*) e a XL para indivíduos com excesso de peso e obesidade. A prova XL ainda não foi validada. (81). Esta técnica é ainda influenciada pela inflamação, colestase, congestão hepática no contexto de insuficiência cardíaca e ascite. (81,95-97)

A elastografia por ARFI tem dado provas de ser um bom método de monitorização, através da deteção da fibrose com o cálculo da velocidade da onda de cisalhamento (*shearing velocity*), avaliando a elasticidade hepática (diferente da elastografia transitória que mede a

rigidez hepática). (6,10,14,32,87,98) Joana Pinto *et al.* (2014), verificou que a elastografia por ARFI é um método não invasivo muito útil para detetar os estadios avançados de fibrose hepática. (99) Utaroh Motosugi *et al.* (2011), verificou que, através da velocidade da onda de cisalhamento, é possível distinguir a esteatose da fibrose (num fígado com esteatose essa velocidade está diminuída, elevando-se com o aumento do grau de fibrose). (87,100). Esta técnica não é influenciada pela espessura da gordura subcutânea. (101) Rajeev Kamble *et al.* (2016), num estudo prospetivo com 54 crianças e adolescentes com excesso de peso e obesas entre os 5 e os 18 anos, corroborou as conclusões anteriormente referidas. (101) Como aspetos negativos desta técnica temos o não permitir classificar os diferentes estadios da fibrose, estar pouco validada na idade pediátrica, a colestase e a necroinflamação são fatores confundentes, e tem baixa especificidade, sendo que se presentes valores muito alterados da velocidade da onda de cisalhamento, estes devem ser confirmados por estudo histológico através da biópsia hepática. (6,10,14,32,87,98,99) No entanto, a sua combinação com a relação  $AST/ALT > 1$  permite aumentar a sua sensibilidade e especificidade na deteção de fibrose. (99)

### **Outros marcadores para identificação do FGNA**

Em estudos recentes, alguns marcadores laboratoriais também parecem apresentar relação com a presença do FGNA e ser potencialmente úteis na monitorização da sua evolução.

Proteínas produzidas pelo tecido adiposo, como a adiponectina e a resistina encontram-se alteradas em indivíduos obesos, baixa e elevada, respetivamente. Essas alterações estão associadas à hiperinsulinemia e à insulinoresistência, fatores envolvidos na patogénese do FGNA. (3,5,44). A leptina, hormona peptídica produzida pelo tecido adiposo, atuando a nível central originando saciedade, encontra-se geralmente elevada nos obesos; no

entanto, estes desenvolvem-lhe resistência. Nos obesos com FGNA e níveis elevados de leptina, esta promove a fibrinogénese hepática, estando também envolvida na progressão para carcinoma hepatocelular. (6,102,103)

Mehmet Boyrazlı *et al.* (2013), doseou, para além da adiponectina, da resistina e da leptina, a *Retinol binding protein 4* (RBP4), proteína produzida pelo tecido adiposo e pelos hepatócitos, tendo como função o transporte da vitamina A. Verificou existir um aumento da RBP4 nas crianças e nos adolescentes obesos com FGNA, estando relacionado com a sua gravidade. (104) Em relação a estes quatro últimos marcadores mais investigação deve ser feita, pois alguns estudos apresentam resultados discordantes. (105-108)

Um estudo revelou que a fetuina A, proteína produzida no fígado, está elevada nas crianças e nos adolescentes obesos com FGNA. (27)

A quemerina, proteína pró-inflamatória produzida pelo tecido adiposo, estando também envolvida na diferenciação do adipócito e na estimulação da lipólise, está aumentada nas crianças obesas com FGNA, e normalmente indica a presença de uma esteatose avançada, com potencial risco de progressão. (20,109)

Ala Ustyó *et al.* (2017), através de um estudo com 100 crianças, verificou que a P-Seleína, molécula que se encontra no interior das células endoteliais e nas plaquetas, estando envolvida na ativação de ambas, apesar de estar geralmente aumentada na população pediátrica obesa, nas crianças obesas com FGNA verificou-se estar diminuída, podendo refletir alteração da dinâmica plaquetar e endotelial provocadas pelas doenças hepáticas. (110)

A elevação da citoqueratina 18 (fragmentos M30 e M65), proteína presente na membrana das células epiteliais e marcador da apoptose dos hepatócitos, e do fator de crescimento dos fibroblastos-21, são sugestivas da presença de esteatohepatite como concluiu uma revisão sistemática com meta-análise realizada por Lei He *et al.* (2017). (33,111)

Anna Alisi *et al.* (2014), num estudo transversal com 110 crianças com excesso de peso/obesas com FGNA confirmado por estudo histológico hepático, e 40 crianças com excesso de peso/obesas sem evidência de patologia hepática, verificou que a *High mobility Group Box 1* (HMGB1) é um potente mediador inflamatório, com efeito pró-fibrótico na lesão hepática. Este mesmo estudo verificou uma correlação significativa entre o aumento do HMGB1, do *Transformant growth factor* e da *Monocyte chemoattractant protein 1* com a progressão do FGNA para fibrose. (112)

Stefano Cianfarani *et al.* (2014), num estudo de coorte com 99 crianças obesas com FGNA comprovado por biópsia, verificou-se que os níveis de *insulin-like growth factor I e II* se relacionam de forma inversa com a progressão do FGNA. (113,114)

Estes novos marcadores poderão ajudar a definir quais são as crianças que ao longo da evolução da doença necessitarão de realizar estudo histológico do tecido hepático. (111)

Também se podem avaliar marcadores indiretos. As concentrações de bilirrubina correlacionam-se de forma inversa com a progressão do FGNA, atendendo ao seu efeito antioxidante. (1,48,115) Kanika Puri *et al.* (2014), num estudo transversal com 302 crianças e adolescentes obesos com FGNA comprovado por biópsia, verificou-se que níveis mais elevados de bilirrubina se associavam a alterações histopatológicas menos graves, corroborando a conclusão de Lin YC *et al.* (2009). (115)

A  $\gamma$ -GT é também um marcador de esteatohepatite e de fibrose avançada (4,5,116) e a hipoalbuminemia e a trombocitopenia podem indiciar cirrose. (33)

Konstantinos Kitsios *et al.* (2012), através de um estudo em 144 crianças e adolescentes entre os 6 e 17 anos, onde destes, 104 apresentavam excesso de peso e obesidade, verificou que não só a Proteína C Reativa (PCR) está elevada no grupo com excesso de peso e obesidade, como essa elevação é mais notória no grupo com FGNA. No entanto, estes resultados não são concordantes com os de estudos anteriores. (117) Alguns

autores indicam que a elevação da PCR num doente com esteatohepatite é indicadora de progressão para fibrose. (5,118)

Também poderão ser aplicados testes respiratórios. Estes consistem na recolha de uma amostra de ar expirado, após uma inspiração profunda, analisada através da tecnologia de espectrometria de massa associada a um tubo de deriva de seleção de iões (*selective ion flow tube mass spectrometry*). (119) Naim Alkhouria *et al.* (2014), através de um estudo transversal em 60 crianças e adolescentes obesos entre os 6 e os 18 anos, nos quais 37 apresentavam FGNA diagnosticado por ecografia e 23 sem FGNA, em que os compostos do ar expirado foram analisados após 8 horas de jejum com esta tecnologia, verificou-se que o isopreno, a acetona, a trimetiamina, o acetaldeído e o pentano (gases resultantes do metabolismo dos lípidos e hidratos de carbono, e do metabolismo da microflora intestinal) se encontram em maior concentração no ar expirado das crianças e adolescentes obesas com FGNA. Este poderá ser um método de rastreio não invasivo viável, simples e seguro, podendo ser utilizado em ambulatório. (48,119)

Nem todas as crianças e adolescentes obesos desenvolvem FGNA, e destas, nem todas apresentam uma doença com capacidade de progressão. Tal relaciona-se não só com o ambiente em que elas crescem, mas também com o seu genótipo. (4,5,48,120) A componente genética corresponde a um elemento *major* desta patologia. (18) Existem polimorfismos que têm um papel determinante, existindo vários polimorfismos de base única (*Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)) identificados, que condicionam diferentes graus de gravidade. (1,6,18, 121). O gene mais frequentemente referido é o *palatin-like phospholipase 3* (*PNPLA3*), que codifica a proteína adiponutrina, envolvida na regulação lipídica. (5,13,32) Polimorfismos presentes neste gene aumentam o risco de desenvolver FGNA, de este agravar e desenvolver manifestações clínicas mais precocemente. Variantes do gene que codifica a apolipoproteína C3 são também indicadores de risco para desenvolver FGNA. (43) Polimorfismos localizados

nos genes que codificam a Lipina 1 (*LPIN1*), superóxido dismutase 2 (*SOD2*), *insulin receptor substrate-1*, *ectoenzyme nucleotide pyrophosphate phosphodiesterase 1* e *Kruppel-like factor 6* (*KLF6*) reguladores do stresse oxidativo, da função da insulina e da fibrinogénese, estão relacionados com a gravidade da lesão hepática. (5,13,18,122) Também variantes do gene regulador da glucocinase, envolvido na lipogénese e na absorção de monossacarídeos, aumentam o risco de FGNA e de dislipidemia nas crianças e adolescentes com obesidade. (18) Polimorfismos nos genes que codificam moléculas pertencentes ao sistema endocanabinóide, nomeadamente o recetor canabinoide tipo 2, estão associados ao aumento das transaminases e também modulam a inflamação hepática nas crianças obesas. (1) Variantes dos genes do fator de necrose tumoral  $\alpha$  e das interleucinas 6 e 8 (40,48) aumentam o risco de desenvolver esteatohepatite. (48,123,124)

Por tudo isto, Valerio Nobili *et al.* (2014) desenvolveram um *score* numérico – *genetic meta-score* – que quantifica a probabilidade da criança com FGNA vir a desenvolver esteatohepatite, de acordo com os polimorfismos que apresenta nos genes *PNPLA3*, *LPIN1*, *SOD2* e *KLF6*. No entanto, este apresenta uma baixa correlação com o nível de fibrose necessitando ainda de validação para ser aplicado na prática clínica. (122)

Atualmente as *guidelines* referem que o estudo genético não deve ser aplicado rotineiramente, sendo apenas recomendado em casos específicos e em contexto de ensaios clínicos. (5,25,125)

### **Biópsia hepática**

Atualmente, o estudo histológico do tecido hepático obtido por biópsia é o método *gold-standard* para confirmar o diagnóstico do FGNA, permitindo distinguir a esteatose da esteatohepatite e a presença de fibrose. Quantifica também a área hepática atingida com base no número de hepatócitos afetados e avalia o grau de gravidade da doença hepática nos

diferentes estadios através da aplicação de *scores*: *Brunt score for NASH* e *NAFLD Activity Score (NAS)*. (2-5,21,48,87,126,127) (Quadro 1) Considerando os anteriores é possível classificar a fibrose em diferentes níveis. (3) (Quadro 2)

**Quadro 1:** Critérios dos *scores* histológicos.

<i>Brunt score for NASH</i>	<i>NAFLD Activity Score (NAS)</i>
Esteatose macrovesicular	Grau de Esteatose
Balonização	Grau de Balonização
Inflamação portal e lobular	Grau de inflamação lobular

NAFLD - *Nonalcoholic fatty liver disease*; NASH - *Nonalcoholic steatohepatitis*

**Quadro 2:** Combinação dos *scores* *Brunt score for NASH* e *NAS*.

<b>Nível 1</b>	Fibrose perissinusoidal
<b>Nível 2</b>	Fibrose portal e periportal
<b>Nível 3</b>	Fibrose em ponte
<b>Nível 4</b>	Cirrose

O *Fatty Liver Inhibition of Progression Consortium (FLIP)* criou também um algoritmo com base na histologia – *FLIP score* – baseado no *steatosis, activity, fibrosis (SAF) score*, tendo melhor acuidade que o *NAS*. (125,128)

Estes *scores* são aplicados tanto nas crianças como nos adultos. No entanto, o *FGNA* pediátrico e do adulto são diferentes do ponto de vista histopatológico, pelo que foi criado o *Pediatric NAFLD Histological Score (PNHS)*, adaptado à histologia da criança. (3,13,129) (Quadro 3)

**Quadro 3:** *Pediatric NAFLD Histological Score (PNHS).*

<b><i>Pediatric NAFLD Histological Score (PNHS)</i></b>
Esteatose
Inflamação lobular
Balonização
Inflamação portal

A biópsia hepática é realizada nas crianças e adolescentes com diagnóstico não invasivo de FGNA apenas em determinadas situações. (5,10,22) (Quadro 4)

**Quadro 4:** Indicações para biópsia hepática em crianças e adolescentes com diagnóstico não invasivo de FGNA.

Elevação persistente das transaminases e insulinoresistência marcada
Elevação significativa e persistente das transaminases durante pelo menos 6 meses
Presença de auto-anticorpos não órgão específicos - anticorpo antinuclear, anticorpo microssomal anti fígado-rim, anticorpo anti-músculo liso <sup>1</sup>
Presença de hiperecogenicidade hepática generalizada na ecografia abdominal, nas quais não se excluiu de forma não invasiva os diagnósticos diferenciais com FGNA
Crianças com características (imagiológicas, genéticas) que indicam grande probabilidade de progressão do FGNA
Antes de intervenções terapêuticas como a farmacoterapia e cirurgia
Em contexto de trabalhos de investigação
Quando os métodos de diagnóstico não invasivos são incongruentes
Ausência de melhoria após a introdução da terapêutica

<sup>1</sup> Os anticorpos podem estar presentes em cerca de 20% de crianças e adolescentes com FGNA. (1)

No entanto, aplicar apenas nestas situações poderá originar um subdiagnóstico das crianças com risco de progressão da doença. (43)

A biópsia hepática apresenta limitações, sendo questionável do ponto de vista ético o seu uso em idade pediátrica. Trata-se de um método invasivo, necessita de internamento, tem riscos tais como a hemorragia, infeção, pneumotórax, hemobilia e hipotensão. (2-5,10,11,14, 32,87,111) Por outro lado, a biópsia é inter e intraobservador dependente e obtém apenas uma

pequena amostra do fígado. O FGNA apresenta uma distribuição desigual, sendo que o fígado pode estar apenas afetado de forma focal, originando assim falso-negativos. (10,32,95)

Por tudo isto foi necessário identificar métodos alternativos à biópsia hepática. São assim considerados os métodos imagiológicos nomeadamente a ressonância magnética.

### **Ressonância Magnética**

Dentro das técnicas de ressonância magnética para o diagnóstico de FGNA, podemos dividi-las em dois métodos: a imagiologia e a espectroscopia. (130)

A imagiologia por RM apresenta diferentes técnicas. A RM com o cálculo da fração de gordura baseada na densidade de prótons (*Proton density fat fraction* (PDFF)) permite quantificar de forma absoluta a gordura hepática, contrariamente à imagiologia por RM convencional. (130) A elastografia por RM é a técnica mais utilizada para monitorizar o FGNA, tendo uma boa acuidade para o diagnóstico de fibrose hepática. (21,131) Num estudo Japonês realizado por Kento Imajo *et al.* (2016), aplicado em 142 adultos com FGNA diagnosticado por biópsia, demonstrou-se que a elastografia por RM para a deteção da fibrose é mais eficiente que a elastografia transitória, (96) facto anteriormente também demonstrado por Anneloes E. Bohte *et al.* (2011). (132) O estudo transversal realizado por Charlie C. Park *et al.* (2017) replicou as mesmas conclusões em 104 americanos acima dos 18 anos, demonstrando maior sensibilidade e especificidade. (14, 90) Através da comparação do cálculo do PDFF (RM) e do parâmetro de atenuação controlada (elastografia transitória) para avaliar a presença de esteatose, conclui-se que a RM tem maior sensibilidade e especificidade. (14,90,96) As outras técnicas imagiológicas de RM como a técnica de imagem pelo desvio químico (*chemical shift imaging*), a técnica do gradiente eco-RM (método dual) (*dual gradient echo-magnetic resonance imaging* (DGE-MRI)) e a técnica de turbo spin-eco (*fast spin-echo magnetic resonance imaging*), também permitem a deteção da esteatose, no

entanto são ainda experimentais e apenas aplicadas na idade adulta. (14,22) Lee *et al.* (2010), verificou que o DGE-MRI é o método mais sensível para a deteção da esteatose. (14,133)

A espectroscopia por RM permite obter uma informação direta acerca da composição do fígado em relação à água, gordura e outros componentes numa pequena região hepática de interesse, calculando também o PDFF. Esta revela ser a técnica mais precisa na avaliação da gordura hepática. No entanto a imagiologia por RM com o cálculo do PDFF é mais utilizada porque a espectroscopia apresenta maiores limitações no que diz respeito à técnica e à disponibilidade, necessitando de maior validação. A espectroscopia por RM apenas consegue avaliar uma pequena área de tecido hepático, contrariamente à imagiologia por RM, que, avaliando toda a área hepática, permite mapear as lesões. (10,130) Mazen Nouredin *et al.* (2013), através de um estudo longitudinal em 50 adultos com FGNA confirmado histologicamente, comparou a acuidade de diagnóstico da esteatose hepática da imagiologia por RM e da espectroscopia por RM, ambas calculando o PDFF, onde concluiu que a imagiologia por RM tem uma acuidade tão boa como a espectroscopia por RM. Também verificou que a imagiologia por RM com o cálculo do PDFF é mais sensível do que a biópsia hepática a detetar o aumento ou a diminuição da gordura hepática ao longo do tempo. (130)

A RM no geral é o melhor método não invasivo para quantificar a gordura e a fibrose hepáticas, apresentando uma forte correlação com os diferentes graus histológicos, considerando-se que apresenta uma acuidade tão boa como a do estudo histológico. (10,130)

A RM não tem interferências da inflamação, colestase, congestão hepática no contexto de insuficiência cardíaca, ascite, ao contrário da elastografia transitória. Tecnicamente é mais eficiente, eliminando vieses resultantes da própria técnica. (2-5,14,32,40,87,90,96,132,134-138)

No entanto é uma técnica fraca na detecção de esteatohepatite. (14,90,96) Aliás, nenhum método imagiológico permite detetar a balonização ou os corpos hialinos de Mallory, indicadores de esteatohepatite. (10,40,130) Atualmente só a biópsia o consegue fazer. (10)

Outra limitação é que a RM é influenciada pela presença de depósitos de ferro hepático. (96,132) Também são ainda muito discutíveis os valores limite a partir dos quais se considera esteatose ou fibrose. Por outro lado, são necessários mais estudos, incluindo estudos de custo-efetividade e estudos aplicados em idade pediátrica, antes de ser recomendada na prática clínica. É também uma técnica demorada, necessita de sedação da criança para a sua realização, sendo utilizada essencialmente em contexto de investigação. (2-5,14,32,40,87,90, 96,132,134-138)

### **Tomografia Axial Computorizada**

A Tomografia Axial Computorizada é um exame muito sensível para detetar esteatose hepática através da relação de atenuação espleno-hepática, mas exige a presença de pelo menos 30,0% de gordura hepática para ser detetada e é impraticável dada a exposição à radiação. (2-5,14,40)

### **Scores clínicos para avaliação do FGNA**

Estão descritos vários *scores*, baseados em variáveis metabólicas e antropométricas, que permitem avaliar a probabilidade de um indivíduo ter ou não esteatose: o *Fatty Liver Index* (FLI), o *Liver Accumulation Product* (LAP); o *Hepatic Steatosis Index* (HSI), o *NAFLD liver fat score* e o *SteatoTest*. (135,139-141) (Quadro 5)

**Quadro 5:** Scores para avaliação de presença de esteatose hepática.

<b>Score</b>	<b>Parâmetros avaliados</b>
<b>FLI</b>	IMC, trigliceridemia, $\gamma$ -GT, perímetro abdominal
<b>LAP</b>	Trigliceridemia, perímetro abdominal corrigido pelo sexo
<b>HSI</b>	Relação AST/ALT, IMC, DM tipo 2, sexo
<b>NAFLD liver fat score</b>	DM tipo 2, insulinemia, AST e ALT
<b>SteatoTest</b>	Macroglobulina $\alpha_2$ , haptoglobina, $\gamma$ -GT, bilirrubina total, apolipoproteína A1, IMC, colesterolemia, trigliceridemia, ALT; os valores são ajustados ao sexo e idade

Estes *scores* foram elaborados a partir da população adulta, necessitando ainda de serem validados para a idade pediátrica. (135,139-141)

Em relação à esteatohepatite, a combinação do SteatoTest com o doseamento da AST, originou o NashTest. (10,142)

Para a fibrose existem também múltiplos *scores*. (10,81,143) (Quadro 6)

**Quadro 6:** Scores para avaliação de fibrose hepática.

<b>Nome do score</b>	<b>Parâmetros avaliados</b>
<b>FIB-4</b>	AST, ALT, contagem das plaquetas, idade
<b>NAFLD fibrosis score</b>	Idade, glicemia, IMC, contagem de plaquetas, albumina, relação AST/ALT
<b>BARD</b>	IMC; relação AST/ALT; DM tipo 2
<b>APRI</b>	Relação AST/Contagem de plaquetas
<b>BAAT</b>	IMC, Idade, trigliceridemia
<b>FibroMeter</b>	Contagem de plaquetas, macroglobulina $\alpha_2$ , AST, idade, tempo de protrombina, ácido hialurónico, azoto ureico
<b>Hepascore</b>	Idade, sexo, bilirrubina, $\gamma$ -GT, ácido hialurónico, macroglobulina $\alpha_2$
<b>FibroTest<sup>1</sup></b>	Macroglobulina $\alpha_2$ , haptoglobina, $\gamma$ -GT, bilirrubina total, apolipoproteína A1

<sup>1</sup>FibroTest - designação europeia; a designação americana é FibroSure

O FIB-4 e o NAFLD *fibrosis score* são os que melhor traduzem a evolução do FGNA para fibrose, assim como apresentam melhor custo-efetividade, tendo valor prognóstico. (81)

A grande limitação no uso destes *scores* clínicos é que a maioria não está validada para a

idade pediátrica, apesar de serem frequentemente aplicados. O FibroTest já foi validado na população pediátrica, mas como inclui a bilirrubina e a haptoglobina, pode haver falsos positivos devido à hemólise, síndrome de Gilbert e colestase. (144) Yang HR *et al.* (2012), verificou que o *score* APRI é um bom marcador para distinguir os diferentes estadios da fibrose na população pediátrica com FGNA, encontrando-se em validação. (145)

O FibroMax Test combina o FibroTest com SteatoTest e o NashTest, sendo um *score* que permite avaliar a probabilidade de esteatose, esteatohepatite e fibrose. (146)

Existem também *scores* desenvolvidos especificamente para a população pediátrica obesa com FGNA. (2,11,135,147,148) (Quadro 7)

**Quadro 7:** *Scores* aplicados na população pediátrica.

<b>Nome do <i>Score</i></b>	<b>Parâmetros avaliados</b>
<b><i>Pediatric NAFLD prediction score (Ped-NAFLD score)</i></b>	Relação perímetro abdominal/altura, HOMA-IR, adiponectina
<b><i>Pediatric NAFLD fibrosis index (PNFI)</i></b>	Idade, perímetro abdominal, trigliceridemia
<b><i>Enhanced Liver Fibrosis (ELF)</i></b>	Inibidor tecidual da metaloproteinase-1, ácido hialurónico propeptídeo amino-terminal do colagénio tipo III

HOMA-IR - *homeostasis model assessment of insulin resistance*

O PNFI tem um bom valor preditivo positivo, mas a sua negatividade não exclui a fibrose. (2,11) A associação do ELF ao *score* PNFI aumenta a acuidade deste último. O *score* ELF é o mais referido nas *guidelines* internacionais. (2,3,14,18,21,33,44,149)

## **Recomendações para rastreamento, diagnóstico e monitorização do FGNA**

As recomendações sobre rastreamento, diagnóstico e monitorização do FGNA não são consensuais, em consequência das limitações dos diferentes exames complementares já apresentados.

*The European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN)* (2012) (5):

A ESPGHAN recomenda que o rastreamento só seja efetuado acima dos 3 anos, em crianças com obesidade, ou com excesso de peso associado a fatores de risco metabólicos (insulinorresistência, DM tipo 2, dislipidemia, hipertensão arterial). O rastreamento combina manifestações clínicas, alterações no exame físico (aumento do perímetro abdominal e *acantose nigricans*), história pessoal, incluindo a história pré-natal e neonatal, história familiar de risco, com a realização de ecografia abdominal convencional, doseamento da ALT (valores de referência do estudo SAFETY) e  $\gamma$ -GT. Inclui ainda na investigação, a avaliação do hemograma, glicémia, HbA1C, HOMA-IR, perfil lipídico, fosfatase alcalina, relação AST/ALT, tempo de protrombina, INR, albumina, bilirrubina, função renal, ionograma, transferrina, ferritina, hormonas tiroideias, ácido úrico, auto-anticorpos (anticorpo IgA contra a transglutaminase tecidual, anticorpo antinuclear e anticorpo anti-músculo liso) e exclusão laboratorial das doenças que secundariamente provocam fígado gordo.

Para a confirmação do diagnóstico, referem que as diferentes técnicas de RM (imagem e espectroscopia) são as que apresentam maior acuidade. Porém, em crianças abaixo dos 10 anos com rastreamento positivo, o diagnóstico definitivo do FGNA deve ser feito com estudo histológico hepático. Acima dos 10 anos, a biópsia terá indicação se após 6 meses de intervenção no estilo de vida, a ecografia e a ALT continuarem alteradas. Também tem indicação se presença de hepatoesplenomegália, existência de história familiar de FGNA com evolução grave, insulinorresistência grave, disfunção hipotalâmica e ainda se os meios não

invasivos não conseguirem excluir doenças que secundariamente originam fígado gordo. Também em contexto de investigação clínica e antes de intervenção farmacológica ou cirúrgica. No seguimento das crianças, recomenda que deve ser aplicado o *score* ELF, associado ao PNFI.

*The American Association for Study of Liver Disease, American College of Gastroenterology and the American Gastroenterology Association (AASLD/ACG / AGA) (2012) (150)*

De acordo com a AASLD/ACG/AGA, que apresenta recomendações aplicadas tanto à população adulta, como à pediátrica, é recomendado que as crianças acima dos 10 anos obesas, ou com excesso de peso com pelo menos três fatores de risco metabólicos (insulinorresistência, DM tipo 2, dislipidemia, hipertensão arterial), devem ser rastreadas através do doseamento das transaminases e da ecografia abdominal convencional. Caso estas não apresentem alterações, este método de rastreio deve ser aplicado cada dois anos.

A biópsia deve ser feita sempre que não se conseguir excluir as doenças que secundariamente originam fígado gordo, ou antes do início da terapêutica farmacológica ou cirúrgica. Considera que o doseamento da citoqueratina-18 e o *score* ELF são bons substitutos do estudo histológico hepático.

*The European Association for the Study of the Liver (EASL) and Obesity (EASO) and Diabetes (EASD) (2016) (125)*

De acordo com a EASL-EASO-EASD, que apresenta recomendações aplicadas à população adulta e pediátrica, propõe-se o rastreio do FGNA a todas as crianças obesas com história familiar, alimentar ou atividade física de risco, não definindo a idade específica. Deverá ser realizada uma ecografia abdominal convencional e aplicados os *scores* FLI, NAFLD *liver fat score* e SteatoTest. No caso de um rastreio negativo, este deve ser repetido cada 3 a 5 anos. Um rastreio positivo exige o envio a especialista para avaliação

pormenorizada e verificação da necessidade de biópsia hepática. Na presença de esteatose a nível ecográfico, com os *scores* anteriores negativos, o rastreio deve ser repetido cada 2 anos.

A esteatohepatite é apenas diagnosticada por estudo histológico hepático associada à aplicação do *score* NAS ou SAF. Os níveis de citoqueratina-18 têm uma acuidade de diagnóstico moderado. As crianças com esteatohepatite devem ter uma vigilância cada 6 a 12 meses, podendo repetir a biópsia cada 5 anos.

Para a avaliação da fibrose recomenda a realização da elastografia por ARFI e a aplicação dos *scores* PNFI e ELF.

Durante o seguimento destas crianças recomenda que deverá ser feita ainda avaliação do risco cardiovascular através da PCR,  $\gamma$ -GT, perfil lipídico, espessura da camada íntima e média da carótida e do eletrocardiograma. Recomenda também o doseamento dos níveis de vitamina D, do ferro e avaliação da função renal.

UK *National Institute for Care and Health Excellence* (NICE) (2016) (151)

De acordo com a NICE, que apresenta também recomendações para a população adulta e pediátrica, recomenda-se o rastreio a todas as crianças com características de síndrome metabólica, através da ecografia convencional, a cada 3 anos caso não se encontrem alterações. Se alterada, devem ser referenciadas para um especialista.

Recomenda também para o diagnóstico da fibrose a aplicação do *score* ELF, devendo ser repetido cada 2 anos.

No seguimento destas crianças deve-se avaliar o risco cardiovascular, a função renal, e o desenvolvimento dos diferentes constituintes da síndrome metabólica.

*North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) (2017) (25)*

Nas recomendações mais recentes emanadas pela NASPGHAN, o rastreio é recomendado a crianças e adolescentes entre os 9 e os 11 anos, obesas, ou com excesso de peso associado a outros fatores de risco metabólicos (obesidade androide, insulinoresistência, DM tipo 2, dislipidemia, síndrome de apneia obstrutiva do sono), ou familiar com FGNA agressivo. Deverá ser efetuado o doseamento da ALT (valores de referência do estudo SAFETY). A ecografia convencional não é recomendada, justificada pela sua baixa sensibilidade e especificidade. Caso a ALT se apresente normal devem ser rastreados cada 2 a 3 anos, ou antes, se um novo fator de risco surgir ou ocorrer o agravamento de um existente. Irmãos com fatores de risco para o desenvolvimento do FGNA também devem ser rastreados. A NASPGHAN considera que *scores* como NAFLD *liver fat score*, FLI, HSI, Ped-NAFLD *score* têm baixa acuidade, pelo que não preconiza a sua utilização.

Para o diagnóstico refere as técnicas de RM como as que apresentam melhor acuidade. Para a esteatohepatite, a biópsia hepática é considerada o único método de diagnóstico, apesar de não ser consensual quando é que esta deve ser implementada, considerando que as crianças com valores de ALT acima de 80 U/L apresentam maior risco. Em relação à fibrose, preconiza a combinação dos *scores* PNFI e ELF. Refere que a elastografia transitória e a elastografia por RM apresentam resultados promissores.

O estudo histológico hepático deve ser repetido cada 2 a 3 anos se houver fibrose ou aparecimento de novos fatores de risco ou agravamento dos existentes.

No seguimento destas crianças considera importante o rastreio cardiovascular com o perfil lipídico (sistemático entre os 9 e os 11 anos e entre os 2 e os 8 anos se existirem fatores de risco ou se a história familiar de dislipidemia ou doença cardiovascular positiva) e com o perfil tensional.

Numa revisão realizada por B. G. P. Koot e V. Nobili (2017), compararam as diferentes *guidelines* anteriormente expostas e verificaram bastantes desigualdades, o que demonstra a dificuldade em uniformizar a abordagem deste quadro clínico. Isto deve-se a vários fatores: os testes de rastreio aplicados são pouco sensíveis e específicos, existe grande variedade de *cut-off* entre os diferentes laboratórios e a história natural do FGNA em idade pediátrica não é bem conhecida. Por outro lado, é necessário ter em conta o custo-efetividade dos diferentes métodos de avaliação. (15)

Tal como a nível internacional, Portugal também não apresenta uma abordagem uniforme do FGNA nas crianças e adolescentes com excesso de peso e obesidade.

## Conclusão

O aumento da frequência do FGNA, que tem evoluído paralelamente ao aumento da prevalência da obesidade pediátrica e que condiciona morbidade futura, justifica o esforço para a sua identificação e monitorização. Embora a inexistência atual de terapêutica específica, o seu reconhecimento reforça a necessidade da intensificação das medidas para alteração do estilo de vida, que se efetivas poderão reverter a sua progressão.

Encontra-se, porém, uma grande dificuldade em uniformizar a atuação nesta população de risco, não existindo claro consenso entre as recomendações das diferentes *guidelines* internacionais para o estudo do FGNA.

Em relação ao rastreio, o doseamento da ALT e a realização de ecografia abdominal convencional, poderão em conjunto constituir a abordagem inicial. O reconhecimento de que a negatividade dos seus resultados não exclui o diagnóstico de FGNA, leva a que periodicamente sejam repetidos, sobretudo se houver persistência ou agravamento da obesidade. A monitorização de parâmetros antropométricos como a medição dos perímetros abdominal e do pescoço, das pregas suprailíaca e subescapular, associados às histórias de risco alimentar, neonatal e familiar, e a presença de insulinoresistência, DM tipo 2, dislipidemia e hipertensão arterial, ajudam a definir a população para rastreio de FGNA. No que diz respeito ao diagnóstico, as técnicas de RM são aquelas que apresentam melhor validade, mas com limitações em termos de custo-efetividade, e a biópsia hepática continua a ser o único método que diagnostica a esteatohepatite.

Para a monitorização, a elastografia por RM associada a *scores* clínicos indicadores de fibrose e o rastreio do risco cardiovascular parecem ser a melhor forma de seguimento destas crianças. O sexo feminino deve ter um seguimento mais apertado pois, apesar do FGNA ser menos comum, as complicações da mesma são mais frequentes.

É unânime a necessidade de conseguir chegar a um consenso em relação à abordagem do FGNA, sendo necessários mais estudos que permitam não só um melhor conhecimento da sua história natural, como a aplicabilidade dos atuais e promissores meios complementares para rastreio, diagnóstico e monitorização.

## **Agradecimentos**

Agradeço à Dr.<sup>a</sup> Raquel Soares, a minha orientadora, por todo o apoio e disponibilidade que apresentou desde o início, sem nunca me negar ajuda para qualquer dúvida. Agradeço também à Professora Doutora Guiomar Oliveira, a minha coorientadora, pela sua disponibilidade e ajuda.

Um agradecimento especial à minha família e amigos pelo suporte desde sempre prestado.

Por fim, um agradecimento a todos aqueles que mesmo não nomeados, foram importantes para a realização deste trabalho.

## Referências Bibliográficas

1. Temple JL, Cordero P, Li J, Nguyen V, Oben JA. A Guide to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Childhood and Adolescence. *Int J Mol Sci.* 2016;17(6).
2. Berardis S, Sokal E. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: an increasing public health issue. *Eur J Pediatr.* 2014;173(2):131-9.
3. Giorgio V, Prono F, Graziano F, Nobili V. Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment targets. *BMC Pediatr.* 2013;13:40.
4. Bojorquez-Ramos Mdel C. [Nonalcoholic fatty liver disease in children]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2014;52 Suppl 1:S110-4.
5. Vajro P, Lenta S, Socha P, Dhawan A, McKiernan P, Baumann U, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(5):700-13.
6. Mencin AA, Lavine JE. Advances in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Clin North Am.* 2011;58(6):1375-92, x.
7. Zelman S. The liver in obesity. *AMA Arch Intern Med.* 1952;90(2):141-56.
8. Adler M, Schaffner F. Fatty liver hepatitis and cirrhosis in obese patients. *Am J Med.* 1979;67(5):811-6.
9. Moran JR, Ghishan FK, Halter SA, Greene HL. Steatohepatitis in obese children: a cause of chronic liver dysfunction. *Am J Gastroenterol.* 1983;78(6):374-7.
10. Bedossa P, Patel K. Biopsy and Noninvasive Methods to Assess Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2016;150(8):1811-22.e4.
11. Nobili V, Alisi A, Vania A, Tiribelli C, Pietrobattista A, Bedogni G. The pediatric NAFLD fibrosis index: a predictor of liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med.* 2009;7:21.

12. Nobili V, Della Corte C, Monti L, Alisi A, Feldstein A. The use of ultrasound in clinical setting for children affected by NAFLD: is it safe and accurate? *Ital J Pediatr.* 37. England 2011. p. 36.
13. Alisi A, Carpino G, Nobili V. Paediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2013;29(3):279-84.
14. Shen FF, Lu LG. Advances in noninvasive methods for diagnosing nonalcoholic fatty liver disease. *J Dig Dis.* 2016;17(9):565-71.
15. Koot BGP, Nobili V. Screening for non-alcoholic fatty liver disease in children: do guidelines provide enough guidance? *Obes Rev.* 2017;18(9):1050-60.
16. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology.* 2015;148(3):547-55.
17. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140908.
18. Nobili V, Svegliati-Baroni G, Alisi A, Miele L, Valenti L, Vajro P. A 360-degree overview of paediatric NAFLD: recent insights. *J Hepatol.* 2013;58(6):1218-29.
19. Monteiro PA, Antunes Bde M, Silveira LS, Christofaro DG, Fernandes RA, Freitas Junior IF. Body composition variables as predictors of NAFLD by ultrasound in obese children and adolescents. *BMC Pediatr.* 2014;14:25.
20. Sypniewska G. Laboratory assessment of cardiometabolic risk in overweight and obese children. *Clin Biochem.* 2015;48(6):370-6.
21. Uppal V, Mansoor S, Furuya KN. Pediatric Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2016;18(5):24.

22. Hesham AKH. Nonalcoholic fatty liver disease in children living in the obeseogenic society. *World J Pediatr.* 2009;5(4):245-54.
23. organization Wh. Obesity and overweight October 2017  
[<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>]
24. RITO AI, GRAÇA, Pedro. Childhoodobesity surveillance initiative: COSI Portugal 2013 Lisboa2015 [<http://www.ceidss.com/wp-content/uploads/2016/01/i021614-3.pdf>]
25. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64(2):319-34.
26. Silveira LS, Monteiro PA, Antunes Bde M, Seraphim PM, Fernandes RA, Christofaro DG, et al. Intra-abdominal fat is related to metabolic syndrome and non-alcoholic fat liver disease in obese youth. *BMC Pediatr.* 2013;13:115.
27. Lebensztejn DM, Bialokoz-Kalinowska I, Klusek-Oksiuta M, Tarasow E, Wojtkowska M, Kaczmarek M. Serum fetuin A concentration is elevated in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Adv Med Sci.* 2014;59(1):81-4.
28. El-Karakasy HM, El-Raziky MS, Fouad HM, Anwar GM, El-Mougy FM, El-Koofy NM, et al. The value of different insulin resistance indices in assessment of non-alcoholic fatty liver disease in overweight/obese children. *Diabetes Metab Syndr.* 2015;9(2):114-9.
29. Boyraz M, Hatipoglu N, Sari E, Akcay A, Taskin N, Ulucan K, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in obese children and the relationship between metabolic syndrome criteria. *Obes Res Clin Pract.* 2014;8(4):e356-63.

30. Ozhan B, Ersoy B, Kiremitci S, Ozkol M, Taneli F. Insulin sensitivity indices: fasting versus glucose-stimulated indices in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015;19(18):3450-8.
31. Newton KP, Hou J, Crimmins NA, Lavine JE, Barlow SE, Xanthakos SA, et al. Prevalence of Prediabetes and Type 2 Diabetes in Children With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *JAMA Pediatr.* 2016;170(10):e161971.
32. Fusillo S, Rudolph B. Nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Rev.* 2015;36(5):198-205; quiz 6.
33. Alisi A, Feldstein AE, Villani A, Raponi M, Nobili V. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease: a multidisciplinary approach. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(3):152-61.
34. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(4):643-54.e1-9; quiz e39-40.
35. Feldstein AE, Charatcharoenwitthaya P, Treeprasertsuk S, Benson JT, Enders FB, Angulo P. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years. *Gut.* 2009;58(11):1538-44.
36. Kohli R, Boyd T, Lake K, Dietrich K, Nicholas L, Balistreri WF, et al. Rapid progression of NASH in childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;50(4):453-6.
37. Bozic MA, Subbarao G, Molleston JP. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Clin Pract.* 2013;28(4):448-58.
38. Gokce S, Atbinici Z, Aycan Z, Cinar HG, Zorlu P. The relationship between pediatric nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk factors and increased risk of atherosclerosis in obese children. *Pediatr Cardiol.* 2013;34(2):308-15.

39. Denzer C, Thiere D, Muche R, Koenig W, Mayer H, Kratzer W, et al. Gender-specific prevalences of fatty liver in obese children and adolescents: roles of body fat distribution, sex steroids, and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(10):3872-81.
40. Widhalm K, Ghods E. Nonalcoholic fatty liver disease: a challenge for pediatricians. *Int J Obes (Lond).* 2010;34(10):1451-67.
41. Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, Deutsch R, Nievergelt C, Schork NJ, et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005;42(3):641-9.
42. Ayonrinde OT, Olynyk JK, Beilin LJ, Mori TA, Pennell CE, de Klerk N, et al. Gender-specific differences in adipose distribution and adipocytokines influence adolescent nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2011;53(3):800-9.
43. Della Corte C, Alisi A, Saccari A, De Vito R, Vania A, Nobili V. Nonalcoholic fatty liver in children and adolescents: an overview. *J Adolesc Health.* 2012;51(4):305-12.
44. Nobili V, Bedogni G, Berni Canani R, Brambilla P, Cianfarani S, Pietrobelli A, et al. The potential role of fatty liver in paediatric metabolic syndrome: a distinct phenotype with high metabolic risk? *Pediatr Obes.* 2012;7(6):e75-80.
45. Rodriguez G, Gallego S, Breidenassel C, Moreno LA, Gottrand F. Is liver transaminases assessment an appropriate tool for the screening of non-alcoholic fatty liver disease in at risk obese children and adolescents? *Nutr Hosp.* 2010;25(5):712-7.
46. Vos MB, Colvin R, Belt P, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, et al. Correlation of vitamin E, uric acid, and diet composition with histologic features of pediatric NAFLD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(1):90-6.
47. Jin R, Le NA, Liu S, Farkas Epperson M, Ziegler TR, Welsh JA, et al. Children with NAFLD are more sensitive to the adverse metabolic effects of fructose beverages than children without NAFLD. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(7):E1088-98.

48. Nobili V, Alkhoury N, Alisi A, Della Corte C, Fitzpatrick E, Raponi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a challenge for pediatricians. *JAMA Pediatr.* 2015;169(2):170-6.
49. Ovchinsky N, Lavine JE. A critical appraisal of advances in pediatric nonalcoholic Fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 2012;32(4):317-24.
50. Nobili V, Bedogni G, Alisi A, Pietrobbattista A, Alterio A, Tiribelli C, et al. A protective effect of breastfeeding on the progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Arch Dis Child.* 2009;94(10):801-5.
51. Modi N, Murgasova D, Ruager-Martin R, Thomas EL, Hyde MJ, Gale C, et al. The influence of maternal body mass index on infant adiposity and hepatic lipid content. *Pediatr Res.* 2011;70(3):287-91.
52. Morandi A, Maffei C. Predictors of metabolic risk in childhood obesity. *Horm Res Paediatr.* 2014;82(1):3-11.
53. Bush H, Golabi P, Younossi ZM. Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Children (Basel).* 2017;4(6).
54. Brumbaugh DE, Tarse P, Cree-Green M, Fenton LZ, Brown M, Scherzinger A, et al. Intrahepatic fat is increased in the neonatal offspring of obese women with gestational diabetes. *J Pediatr.* 2013;162(5):930-6.e1.
55. Alkassabany YM, Farghaly AG, El-Ghitany EM. Prevalence, risk factors, and predictors of nonalcoholic fatty liver disease among schoolchildren: a hospital-based study in Alexandria, Egypt. *Arab J Gastroenterol.* 2014;15(2):76-81.
56. Schwimmer JB, Celedon MA, Lavine JE, Salem R, Campbell N, Schork NJ, et al. Heritability of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2009;136(5):1585-92.

57. Guijarro de Armas MG, Monereo Megias S, Navea Aguilera C, Merino Viveros M, Vega Pinero MB. [Non-alcoholic fatty liver in children and adolescents with excess weight and obesity]. *Med Clin (Barc)*. 2015;144(2):55-8.
58. Fishbein MH, Mogren C, Gleason T, Stevens WR. Relationship of hepatic steatosis to adipose tissue distribution in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006;42(1):83-8.
59. Lin YC, Chang PF, Yeh SJ, Liu K, Chen HC. Risk factors for liver steatosis in obese children and adolescents. *Pediatr Neonatol*. 2010;51(3):149-54.
60. El-Koofy NM, Anwar GM, El-Raziky MS, El-Hennawy AM, El-Mougy FM, El-Karaksy HM, et al. The association of metabolic syndrome, insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease in overweight/obese children. *Saudi J Gastroenterol*. 2012;18(1):44-9.
61. Damaso AR, do Prado WL, de Piano A, Tock L, Caranti DA, Lofrano MC, et al. Relationship between nonalcoholic fatty liver disease prevalence and visceral fat in obese adolescents. *Dig Liver Dis*. 2008;40(2):132-9.
62. Ochiai H, Shirasawa T, Nishimura R, Nanri H, Ohtsu T, Hoshino H, et al. Waist-to-height ratio is more closely associated with alanine aminotransferase levels than body mass index and waist circumference among population-based children: a cross-sectional study in Japan. *BMC Pediatr*. 2015;15:59.
63. Nooyens AC, Koppes LL, Visscher TL, Twisk JW, Kemper HC, Schuit AJ, et al. Adolescent skinfold thickness is a better predictor of high body fatness in adults than is body mass index: the Amsterdam Growth and Health Longitudinal Study. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(6):1533-9.

64. Ayonrinde OT, Olynyk JK, Marsh JA, Beilin LJ, Mori TA, Oddy WH, et al. Childhood adiposity trajectories and risk of nonalcoholic fatty liver disease in adolescents. *J Gastroenterol Hepatol*. 2015;30(1):163-71.
65. Yan Y, Hou D, Zhao X, Liu J, Cheng H, Wang Y, et al. Childhood Adiposity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adulthood. *Pediatrics*. 2017;139(4).
66. Hatipoglu N, Dogan S, Mazicioglu MM, Kurtoglu S. Relationship between Neck Circumference and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Childhood Obesity. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2016;8(1):32-9.
67. Singer C, Stancu P, Cosoveanu S, Botu A. Non-alcoholic Fatty liver disease in children. *Curr Health Sci J*. 2014;40(3):170-6.
68. Berkowitz RI, Fabricatore AN. Obesity, psychiatric status, and psychiatric medications. *Psychiatr Clin North Am*. 2011;34(4):747-64.
69. Van Vlierberghe L, Braet C, Goossens L, Mels S. Psychiatric disorders and symptom severity in referred versus non-referred overweight children and adolescents. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2009;18(3):164-73.
70. Kerkar N, D'Urso C, Van Nostrand K, Kochin I, Gault A, Suchy F, et al. Psychosocial outcomes for children with nonalcoholic fatty liver disease over time and compared with obese controls. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013;56(1):77-82.
71. Punjabi NM, Polotsky VY. Disorders of glucose metabolism in sleep apnea. *J Appl Physiol* (1985). 2005;99(5):1998-2007.
72. Li J, Grigoryev DN, Ye SQ, Thorne L, Schwartz AR, Smith PL, et al. Chronic intermittent hypoxia upregulates genes of lipid biosynthesis in obese mice. *J Appl Physiol* (1985). 2005;99(5):1643-8.

73. Sundaram SS, Sokol RJ, Capocelli KE, Pan Z, Sullivan JS, Robbins K, et al. Obstructive sleep apnea and hypoxemia are associated with advanced liver histology in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr*. 2014;164(4):699-706.e1.
74. Fraser A, Longnecker MP, Lawlor DA. Prevalence of elevated alanine aminotransferase among US adolescents and associated factors: NHANES 1999-2004. *Gastroenterology*. 2007;133(6):1814-20.
75. Wiegand S, Keller KM, Robl M, L'Allemand D, Reinehr T, Widhalm K, et al. Obese boys at increased risk for nonalcoholic liver disease: evaluation of 16,390 overweight or obese children and adolescents. *Int J Obes (Lond)*. 2010;34(10):1468-74.
76. Bramlage KS, Bansal V, Xanthakos SA, Kohli R. Fatty liver disease in children--what should one do? *Indian J Pediatr*. 2013;80 Suppl 1:S109-14.
77. Vajro P, Maddaluno S, Veropalumbo C. Persistent hypertransaminasemia in asymptomatic children: a stepwise approach. *World J Gastroenterol*. 2013;19(18):2740-51.
78. England K, Thorne C, Pembrey L, Tovo PA, Newell ML. Age- and sex-related reference ranges of alanine aminotransferase levels in children: European paediatric HCV network. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;49(1):71-7.
79. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, et al. Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: a CALIPER database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. *Clin Chem*. 2012;58(5):854-68.
80. Schwimmer JB, Dunn W, Norman GJ, Pardee PE, Middleton MS, Kerkar N, et al. SAFETY study: alanine aminotransferase cutoff values are set too high for reliable detection of pediatric chronic liver disease. *Gastroenterology*. 2010;138(4):1357-64, 64.e1-2.
81. Kaswala DH, Lai M, Afdhal NH. Fibrosis Assessment in Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in 2016. *Dig Dis Sci*. 2016;61(5):1356-64.

82. PRATT DS. Evaluation of liver function - Harrison's Principles of Internal Medicine. 19th ed. KASPER DL, HOUSE SL, JAMESON, Larry J, FAUCI AS, LONGO DL, et al., editors: McGraw Hill Education Companies; 2015. 1995-9 p.
83. Oliveira AM, Oliveira N, Reis JC, Santos MV, Silva AM, Adan L. Triglycerides and alanine aminotransferase as screening markers for suspected fatty liver disease in obese children and adolescents. *Horm Res.* 2009;71(2):83-8.
84. Schlieske C, Denzer C, Wabitsch M, Oeztuerk S, Mason RA, Thiere D, et al. Sonographically measured suprahepatic adipose tissue is a useful predictor of non-alcoholic fatty liver disease in obese children and adolescents. *Pediatr Obes.* 2015;10(4):260-6.
85. Marshall RH, Eissa M, Bluth EI, Gulotta PM, Davis NK. Hepatorenal index as an accurate, simple, and effective tool in screening for steatosis. *AJR Am J Roentgenol.* 2012;199(5):997-1002.
86. Akcam M, Boyaci A, Pirgon O, Koroglu M, Dundar BN. Importance of the liver ultrasound scores in pubertal obese children with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Imaging.* 2013;37(3):504-8.
87. Di Martino M, Koryukova K, Bezzi M, Catalano C. Imaging Features of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents. *Children (Basel).* 2017;4(8).
88. Erdogmus B, Tamer A, Buyukkaya R, Yazici B, Buyukkaya A, Korkut E, et al. Portal vein hemodynamics in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Tohoku J Exp Med.* 2008;215(1):89-93.
89. Paige JS, Bernstein GS, Heba E, Costa EAC, Ferreira M, Wolfson T, et al. A Pilot Comparative Study of Quantitative Ultrasound, Conventional Ultrasound, and MRI for Predicting Histology-Determined Steatosis Grade in Adult Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *AJR Am J Roentgenol.* 2017;208(5):W168-w77.

90. 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*. 2017;152(3):598-607.e2.
91. de Ledinghen V, Vergniol J, Foucher J, Merrouche W, le Bail B. Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography. *Liver Int*. 2012;32(6):911-8.
92. Ferraioli G, Calcaterra V, Lissandrin R, Guazzotti M, Maiocchi L, Tinelli C, et al. Noninvasive assessment of liver steatosis in children: the clinical value of controlled attenuation parameter. *BMC Gastroenterol*. 2017;17(1):61.
93. Goldschmidt I, Di Nanni A, Streckenbach C, Schnell K, Danne T, Baumann U. Improvement of BMI after Lifestyle Intervention Is Associated with Normalisation of Elevated ELF Score and Liver Stiffness in Obese Children. *Biomed Res Int*. 2015;2015:457473.
94. Chan WK, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. Controlled attenuation parameter for the detection and quantification of hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2014;29(7):1470-6.
95. Singh S, Muir AJ, Dieterich DT, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute Technical Review on the Role of Elastography in Chronic Liver Diseases. *Gastroenterology*. 2017;152(6):1544-77.
96. 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*. 2016;150(3):626-37.e7.

97. Arena U, Lupsor Platon M, Stasi C, Moscarella S, Assarat A, Bedogni G, et al. Liver stiffness is influenced by a standardized meal in patients with chronic hepatitis C virus at different stages of fibrotic evolution. *Hepatology*. 2013;58(1):65-72.
98. Nobili V, Vizzutti F, Arena U, Abraldes JG, Marra F, Pietrobattista A, et al. Accuracy and reproducibility of transient elastography for the diagnosis of fibrosis in pediatric nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2008;48(2):442-8.
99. Pinto J, Matos H, Nobre S, Cipriano MA, Marques M, Pereira JM, et al. Comparison of acoustic radiation force impulse/serum noninvasive markers for fibrosis prediction in liver transplant. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;58(3):382-6.
100. Motosugi U, Ichikawa T, Niitsuma Y, Araki T. Acoustic radiation force impulse elastography of the liver: can fat deposition in the liver affect the measurement of liver stiffness? *Jpn J Radiol*. 2011;29(9):639-43.
101. Kamble R, Sodhi KS, Thapa BR, Saxena AK, Bhatia A, Dayal D, et al. Liver acoustic radiation force impulse (ARFI) in childhood obesity: comparison and correlation with biochemical markers. *J Ultrasound*. 2017;20(1):33-42.
102. Choi SS, Syn WK, Karaca GF, Omenetti A, Moylan CA, Witek RP, et al. Leptin promotes the myofibroblastic phenotype in hepatic stellate cells by activating the hedgehog pathway. *J Biol Chem*. 2010;285(47):36551-60.
103. Wang SN, Lee KT, Ker CG. Leptin in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2010;16(46):5801-9.
104. Boyraz M, Cekmez F, Karaoglu A, Cinaz P, Durak M, Bideci A. Serum adiponectin, leptin, resistin and RBP4 levels in obese and metabolic syndrome children with nonalcoholic fatty liver disease. *Biomark Med*. 2013;7(5):737-45.

105. Mandato C, Lucariello S, Licenziati MR, Franzese A, Spagnuolo MI, Ficarella R, et al. Metabolic, hormonal, oxidative, and inflammatory factors in pediatric obesity-related liver disease. *J Pediatr.* 2005;147(1):62-6.
106. Lebensztejn DM, Wojtkowska M, Skiba E, Werpachowska I, Tobolczyk J, Kaczmarek M. Serum concentration of adiponectin, leptin and resistin in obese children with non-alcoholic fatty liver disease. *Adv Med Sci.* 2009;54(2):177-82.
107. Manco M, Marcellini M, Giannone G, Nobili V. Correlation of serum TNF-alpha levels and histologic liver injury scores in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Pathol.* 2007;127(6):954-60.
108. Sundaram SS, Zeitler P, Nadeau K. The metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease in children. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21(4):529-35.
109. Klusek-Oksiuta M, Bialokoz-Kalinowska I, Tarasow E, Wojtkowska M, Werpachowska I, Lebensztejn DM. Chemerin as a novel non-invasive serum marker of intrahepatic lipid content in obese children. *Ital J Pediatr.* 2014;40:84.
110. Ustyol A, Ayca Ustyol E, Gurdol F, Kokali F, Bekpinar S. P-selectin, endocan, and some adhesion molecules in obese children and adolescents with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2017;77(3):205-9.
111. He L, Deng L, Zhang Q, Guo J, Zhou J, Song W, et al. Diagnostic Value of CK-18, FGF-21, and Related Biomarker Panel in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int.* 2017;2017:9729107.
112. Alisi A, Nobili V, Ceccarelli S, Panera N, De Stefanis C, De Vito R, et al. Plasma high mobility group box 1 protein reflects fibrosis in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Mol Diagn.* 2014;14(6):763-71.

113. Cianfarani S, Inzaghi E, Alisi A, Germani D, Puglianiello A, Nobili V. Insulin-like growth factor-I and -II levels are associated with the progression of nonalcoholic fatty liver disease in obese children. *J Pediatr.* 2014;165(1):92-8.
114. Liang S, Cheng X, Hu Y, Song R, Li G. Insulin-like growth factor 1 and metabolic parameters are associated with nonalcoholic fatty liver disease in obese children and adolescents. *Acta Paediatr.* 2017;106(2):298-303.
115. Lin YC, Chang PF, Hu FC, Chang MH, Ni YH. Variants in the UGT1A1 gene and the risk of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatrics.* 2009;124(6):e1221-7.
116. Patel DA, Srinivasan SR, Xu JH, Chen W, Berenson GS. Persistent elevation of liver function enzymes within the reference range is associated with increased cardiovascular risk in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Metabolism.* 2007;56(6):792-8.
117. Kitsios K, Papadopoulou M, Kosta K, Kadoglou N, Papagianni M, Tsiroukidou K. High-sensitivity C-reactive protein levels and metabolic disorders in obese and overweight children and adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2013;5(1):44-9.
118. Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, et al. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol.* 2007;42(7):573-82.
119. Alkhouri N, Cikach F, Eng K, Moses J, Patel N, Yan C, et al. Analysis of breath volatile organic compounds as a noninvasive tool to diagnose nonalcoholic fatty liver disease in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2014;26(1):82-7.
120. Lin YC, Chang PF, Chang MH, Ni YH. Genetic variants in GCKR and PNPLA3 confer susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in obese individuals. *Am J Clin Nutr.* 2014;99(4):869-74.

121. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008;40(12):1461-5.
122. Nobili V, Donati B, Panera N, Vongsakulyanon A, Alisi A, Dallapiccola B, et al. A 4-polymorphism risk score predicts steatohepatitis in children with nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;58(5):632-6.
123. Carulli L, Canedi I, Rondinella S, Lombardini S, Ganazzi D, Fargion S, et al. Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease: interleukin-6-174G/C polymorphism is associated with non-alcoholic steatohepatitis. *Dig Liver Dis.* 2009;41(11):823-8.
124. Tokushige K, Takakura M, Tsuchiya-Matsushita N, Taniai M, Hashimoto E, Shiratori K. Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis. *J Hepatol.* 2007;46(6):1104-10.
125. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016;64(6):1388-402.
126. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(9):2467-74.
127. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005;41(6):1313-21.
128. Bedossa P. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2014;60(2):565-75.

129. Alkhoury N, De Vito R, Alisi A, Yerian L, Lopez R, Feldstein AE, et al. Development and validation of a new histological score for pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2012;57(6):1312-8.
130. Nouredin M, Lam J, Peterson MR, Middleton M, Hamilton G, Le TA, et al. Utility of magnetic resonance imaging versus histology for quantifying changes in liver fat in nonalcoholic fatty liver disease trials. *Hepatology.* 2013;58(6):1930-40.
131. Xanthakos SA, Podberesky DJ, Serai SD, Miles L, King EC, Balistreri WF, et al. Use of magnetic resonance elastography to assess hepatic fibrosis in children with chronic liver disease. *J Pediatr.* 2014;164(1):186-8.
132. Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol.* 2011;21(1):87-97.
133. Lee SS, Park SH, Kim HJ, Kim SY, Kim MY, Kim DY, et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations. *J Hepatol.* 2010;52(4):579-85.
134. Ozcan HN, Oguz B, Haliloglu M, Orhan D, Karcaaltincaba M. Imaging patterns of fatty liver in pediatric patients. *Diagn Interv Radiol.* 2015;21(4):355-60.
135. Koot BG, van der Baan-Slootweg OH, Bohte AE, Nederveen AJ, van Werven JR, Tamminga-Smeulders CL, et al. Accuracy of prediction scores and novel biomarkers for predicting nonalcoholic fatty liver disease in obese children. *Obesity (Silver Spring).* 2013;21(3):583-90.
136. Roldan-Valadez E, Favila R, Martinez-Lopez M, Uribe M, Rios C, Mendez-Sanchez N. In vivo 3T spectroscopic quantification of liver fat content in nonalcoholic fatty liver disease: Correlation with biochemical method and morphometry. *J Hepatol.* 2010;53(4):732-7.

137. Zhang HX, Xu XQ, Fu JF, Lai C, Chen XF. Predicting hepatic steatosis and liver fat content in obese children based on biochemical parameters and anthropometry. *Pediatr Obes.* 2015;10(2):112-7.
138. Tang A, Tan J, Sun M, Hamilton G, Bydder M, Wolfson T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: MR imaging of liver proton density fat fraction to assess hepatic steatosis. *Radiology.* 2013;267(2):422-31.
139. Cuthbertson DJ, Weickert MO, Lythgoe D, Sprung VS, Dobson R, Shoajee-Moradie F, et al. External validation of the fatty liver index and lipid accumulation product indices, using <sup>1</sup>H-magnetic resonance spectroscopy, to identify hepatic steatosis in healthy controls and obese, insulin-resistant individuals. *Eur J Endocrinol.* 2014;171(5):561-9.
140. Poynard T, Ratziu V, Naveau S, Thabut D, Charlotte F, Messous D, et al. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comp Hepatol.* 2005;4:10.
141. Sartorio A, Del Col A, Agosti F, Mazzilli G, Bellentani S, Tiribelli C, et al. Predictors of non-alcoholic fatty liver disease in obese children. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(7):877-83.
142. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Messous D, Munteanu M, Imbert-Bismut F, et al. Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol.* 2006;6:34.
143. Mencin AA, Lavine JE. Nonalcoholic fatty liver disease in children. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011;14(2):151-7.
144. de Ledinghen V, Le Bail B, Rebouissoux L, Fournier C, Foucher J, Miette V, et al. Liver stiffness measurement in children using FibroScan: feasibility study and comparison with Fibrotest, aspartate transaminase to platelets ratio index, and liver biopsy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;45(4):443-50.

145. Yang HR, Kim HR, Kim MJ, Ko JS, Seo JK. Noninvasive parameters and hepatic fibrosis scores in children with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2012;18(13):1525-30.
146. Munteanu M, Ratziu V, Morra R, Messous D, Imbert-Bismut F, Poynard T. Noninvasive biomarkers for the screening of fibrosis, steatosis and steatohepatitis in patients with metabolic risk factors: FibroTest-FibroMax experience. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2008;17(2):187-91.
147. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology.* 2008;47(2):455-60.
148. Nobili V, Parkes J, Bottazzo G, Marcellini M, Cross R, Newman D, et al. Performance of ELF serum markers in predicting fibrosis stage in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2009;136(1):160-7.
149. de Alwis NM, Anstee QM, Day CP. How to Diagnose Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis.* 2016;34 Suppl 1:19-26.
150. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol.* 2012;107(6):811-26.
151. Glen J, Floros L, Day C, Pryke R. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): summary of NICE guidance. *Bmj.* 2016;354:i4428.