



Archivos Venezolanos de Farmacología y
Terapéutica
ISSN: 0798-0264
revista.avft@gmail.com
Sociedad Venezolana de Farmacología Clínica y
Terapéutica
Venezuela

Nuevos enfoques diagnósticos para la esteatosis hepática no alcohólica

Morales Carrasco, Alex Patricio; Navarro Armas, Vanessa; Ochoa Crespo, Diego; Rodríguez Vela, Valeria; Villota Villota, Berta; Quinatoa Yaucan, Gabriela; Gallegos Paredes, Manuel; Jaramillo Palacios, Carlos; Altamirano, Jorge Andrade

Nuevos enfoques diagnósticos para la esteatosis hepática no alcohólica

Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica, vol. 39, núm. 6, 2020

Sociedad Venezolana de Farmacología Clínica y Terapéutica, Venezuela

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=55965387010>

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4404774>

Derechos reservados. Queda prohibida la reproducción total o parcial de todo el material contenido en la revista sin el consentimiento por escrito del editor en jefe



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-SinDerivar 4.0 Internacional.

Nuevos enfoques diagnósticos para la esteatosis hepática no alcohólica

New diagnostic approaches for non-alcoholic fatty liver disease

Alex Patricio Morales Carrasco

Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y Salud Social. Departamento de Investigaciones "Dr. Carlos J. Finlay y de Barré". Proyecto de investigación: "Estrategias regionales para la prevención y control de las enfermedades gastrointestinales en América Latina y el Caribe". 2Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social. Ambato. República del Ecuador, Ecuador
tony2803@hotmail.es

 <https://orcid.org/0000-0002-7991-0685>
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4404774>
 Redalyc: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=55965387010>

Vanessa Navarro Armas

Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y Salud Social. Departamento de Investigaciones "Dr. Carlos J. Finlay y de Barré". Proyecto de investigación: "Estrategias regionales para la prevención y control de las enfermedades gastrointestinales en América Latina y el Caribe", Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0002-3304-9471>

Diego Ochoa Crespo

Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y Salud Social. Departamento de Investigaciones "Dr. Carlos J. Finlay y de Barré". Proyecto de investigación: "Estrategias regionales para la prevención y control de las enfermedades gastrointestinales en América Latina y el Caribe", Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0001-7100-8104>

Valeria Rodríguez Vela

Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y Salud Social. Departamento de Investigaciones "Dr. Carlos J. Finlay y de Barré". Proyecto de investigación: "Estrategias regionales para la prevención y control de las enfermedades gastrointestinales en América Latina y el Caribe", Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0001-7341-152X>

Berta Villota Villota

Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y Salud Social. Departamento de Investigaciones "Dr. Carlos J. Finlay y de Barré". Proyecto de investigación: "Estrategias regionales para la prevención y control de las enfermedades gastrointestinales en América Latina y el Caribe", Ecuador

NOTAS DE AUTOR

tony2803@hotmail.es

 <https://orcid.org/0000-0002-4226-1191>

Gabriela Quinatoa Yaucan
Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y
Salud Social. Departamento de Investigaciones “Dr. Carlos
J. Finlay y de Barré”. Proyecto de investigación: “Estrategias
regionales para la prevención y control de las enfermedades
gastrointestinales en América Latina y el Caribe”, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0002-8328-1412>

Manuel Gallegos Paredes
Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y
Salud Social. Departamento de Investigaciones “Dr. Carlos
J. Finlay y de Barré”. Proyecto de investigación: “Estrategias
regionales para la prevención y control de las enfermedades
gastrointestinales en América Latina y el Caribe”, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0001-5375-7822>

Carlos Jaramillo Palacios
Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y
Salud Social. Departamento de Investigaciones “Dr. Carlos
J. Finlay y de Barré”. Proyecto de investigación: “Estrategias
regionales para la prevención y control de las enfermedades
gastrointestinales en América Latina y el Caribe”, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0001-6075-8567>

Jorge Andrade Altamirano
Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y
Salud Social. Departamento de Investigaciones “Dr. Carlos
J. Finlay y de Barré”. Proyecto de investigación: “Estrategias
regionales para la prevención y control de las enfermedades
gastrointestinales en América Latina y el Caribe”, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0001-9917-6097>

Recepción: 28 Julio 2020

Aprobación: 15 Agosto 2020

Publicación: 09 Octubre 2020

RESUMEN:

La esteatosis hepática no alcohólica o enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) es actualmente la enfermedad hepática crónica más común a nivel mundial, con alta prevalencia y mortalidad, y estrechamente vinculada con otras enfermedades crónicas transmisibles que constituyen problemas graves hoy en día como el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2. La EHGNA engloba un espectro de entidades histopatológicas, que se correlaciona directamente con la historia natural de la enfermedad, donde el hígado graso no alcohólico es considerado la forma benigna inicial, precedente a la esteatohepatitis no alcohólica, que incrementa el riesgo de complicaciones hepáticas, así como la mortalidad general y por causas hepáticas. Aunque estas descripciones son conceptualmente claras, el diagnóstico de las entidades en el espectro de la EHGNA suele ser complejo o difícil, especialmente para las formas más leves o incipientes. La biopsia hepática es el procedimiento gold standard para el diagnóstico de estas condiciones. No obstante, es impráctica para su uso a gran escala, acarrea los riesgos relacionados con su invasividad y puede ser poco sensible; mientras que las técnicas de imagenología pueden ser costosas o logísticamente imprácticas. La identificación de biomarcadores circulantes confiables para la EHGNA podría aliviar esta problemática. No obstante, debido a que la EHGNA es eminentemente multifactorial, es improbable que cualquier marcador aislado sea suficiente para una evaluación

diagnóstica o pronóstica certera. En esta revisión se resumen los nuevos enfoques diagnósticos para la EHGNA, centrados en el uso de biomarcadores.

PALABRAS CLAVE: Esteatosis hepática no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica, métodos diagnósticos, biomarcadores..

ABSTRACT:

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is currently the most common chronic liver disease worldwide, with high prevalence and mortality, and closely linked with other chronic non-communicable diseases which constitute severe problems presently, such as the metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus. NAFLD encompasses a spectrum of histopathologic entities directly correlated with the natural history of the disease, where non-alcoholic hepatic steatosis is considered the benign initial form, previous to non-alcoholic steatohepatitis, which increases the risk of hepatic complications, as well as general and liver-related mortality. Although these descriptions are conceptually clear, diagnosis of entities in the NAFLD spectrum is often complex or difficult, especially for mild or incipient forms. Liver biopsy remains the *gold standard* procedure for their diagnosis. However, it is impractical for large-scale use, entails risks related to invasiveness and may have low sensitivity; while imaging techniques may be costly or logistically implausible. Identification of reliable circulating biomarkers for NAFLD may alleviate these problems. Nevertheless, because NAFLS is an eminently multifactorial, it is improbable that any sole marker be enough for certain diagnostic or prognostic assessment. This review summarizes new diagnostic approaches for NAFLD, centered on the use of biomarkers.

KEYWORDS: Non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, diagnostic methods, biomarkers..

INTRODUCCIÓN

La esteatosis hepática no alcohólica o enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) es actualmente la enfermedad hepática crónica más común a nivel mundial, con una prevalencia estimada de 20-30%¹. La EHGNA se encuentra estrechamente vinculada con varias enfermedades crónicas no transmisibles, en particular la obesidad, que tiende a triplicar el riesgo de esta enfermedad, actuando como factor de riesgo independiente. La EHGNA además ha exhibido una tendencia consistente de ascenso en su prevalencia en paralelo al auge desmedido de la obesidad en décadas recientes². La EHGNA también muestra una relación bidireccional y recíproca con el síndrome metabólico (SM) y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), así como con varias otras enfermedades crónicas, como las patologías cardiovasculares y renales³. La EHGNA se proyecta en el futuro próximo como la primera causa para los trasplantes de hígado, subrayando la relevancia actual de esta patología⁴.

La EHGNA engloba un espectro de entidades histopatológicas, que se correlaciona directamente con la historia natural de la enfermedad, donde el hígado graso no alcohólico (HGNA) es considerado la forma benigna inicial, precedente a la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), que incrementa el riesgo de complicaciones hepáticas, así como la mortalidad general y por causas hepáticas⁵. Con la evolución en el tiempo, se instalan la cirrosis hepática, y en última instancia, el carcinoma hepatocelular⁶. En la actualidad, se define el HGNA como la presencia de esteatosis en $\geq 5\%$ del parénquima hepático; mientras que se considera la EHNA como un proceso histológico inflamatorio y necrótico de lesión celular en el contexto de la esteatosis⁷. Aunque estas descripciones son conceptualmente claras, el diagnóstico de las entidades en el espectro de la EHGNA suele ser complejo o difícil, especialmente para las formas más leves o incipientes⁸.

En efecto, más allá de las definiciones diagnósticas, el refinamiento o introducción de nuevas estrategias diagnósticas para la EHGNA son metas prioritarias en el ámbito de la hepatología; especialmente para los estadios tempranos, con el objetivo de facilitar la implementación de intervenciones preventivas y terapéuticas precoces⁹. Esta dificultad diagnóstica realza el impacto de la EHGNA en los sistemas de salud debido a la alta demanda asistencial y financiera que implica el cribado y diagnóstico de estas enfermedades, sumado a los costos del manejo de las mismas y sus múltiples complicaciones¹⁰. La biopsia hepática es el procedimiento gold standard para el diagnóstico de estas condiciones. No obstante, es impráctica para su uso a gran escala, acarrea los riesgos relacionados con su invasividad y puede ser poco sensible o infraestimar la

severidad de la enfermedad, pues sólo examina una porción limitada del tejido hepático total¹¹. Asimismo, el uso de técnicas de imagenología es costoso, y puede ser compleja la selección de los pacientes ideales, según el procedimiento¹². Por lo tanto, en esta revisión se resumen los nuevos enfoques diagnósticos para la EHGNA, centrados en el uso de biomarcadores.

BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA

La identificación de biomarcadores circulantes confiables para la EHGNA podría aliviar la problemática vinculada con la invasividad de la biopsia hepática para este fin. No obstante, debido a que la EHGNA es eminentemente multifactorial, es improbable que cualquier marcador aislado sea suficiente para una evaluación diagnóstica o pronóstica certera⁵. En este contexto, han surgido varias puntuaciones compuestas por varios biomarcadores que han obtenido alto interés rápidamente debido a su practicidad y fácil aplicabilidad¹³. Por ejemplo, el NAFLD liver fat score (N-LFS) o puntuación de grasa hepática EHGNA ha logrado discriminar exitosamente el impacto de algunas intervenciones terapéuticas en esta población de pacientes¹⁴. No obstante, la implementación de estas herramientas es aún tentativa, y se fundamenta en la reunión de indicadores de esteatosis, esteatohepatitis y fibrosis.

• *Biomarcadores de esteatosis*

La necesidad de utilizar puntuaciones estructuradas es especialmente prominente para la evaluación de la presencia de esteatosis, para la cual no hay marcadores directos aislados. El N-LFS, previamente discutido, incluye la medición del contenido graso del hígado por espectroscopia de resonancia magnética nuclear (ERMN), la presencia de SM con DM2, los niveles de aspartato aminotransferasa (AST), la relación AST: ALT y los niveles séricos de insulina en ayuno; y ha mostrado sensibilidad y especificidad de 86% y 71%, respectivamente¹⁵. Una de las herramientas más eficientes actualmente disponibles es el *NAFLD ridge score*, que incluye la determinación de los niveles séricos de alanina aminotransferasa (ALT) lipoproteínas de alta densidad (HDL), colesterol y triglicéridos (TAG) totales, hemoglobina A1C (HbA1C), recuento leucocitario, y la presencia de hipertensión arterial¹⁶. Esta alternativa ha mostrado un valor predictivo negativo (VPN) de 96%, pero podría no ser útil para estratificar la esteatosis u observar cambios en el tiempo¹⁷.

La evidencia para otros índices, como el *fatty liver index* (FLI), el *hepatic steatosis index* (HIS) o el *lipid accumulation product index* (LAP) es menos robusta, pues se ha basado en la comparación con los diagnósticos ultrasonográficos, que son influidos sustancialmente por la subjetividad del observador. El FLI incluye el índice de masa corporal (IMC), la circunferencia abdominal (CA), y los niveles séricos de TAG y γ -glutamilttransferasa (GGT) (x); mientras que el HIS incluye el HIS, la relación AST: ALT, el IMC, la presencia de DM2 y el sexo¹⁸. El LAP toma en cuenta la edad de los pacientes, además de los niveles de TAG y la CA¹⁹. Aún es necesaria mayor investigación acumulada para apoyar el uso de corriente de estos índices, al igual que para orientar su uso en la clínica.

• *Biomarcadores de esteatohepatitis*

La transición de HGNA a EHNA es un proceso gradual y soterrado, lo cual dificulta una distinción clara en la práctica, especialmente en los primeros momentos. Esta diferenciación es incluso complicada en la evaluación histopatológica, con amplia variabilidad entre patólogos. Esto ha llevado a la introducción del algoritmo FLIP (*Fatty Liver Inhibition or Progression*) para unificar los diagnósticos a partir de un esquema de puntuaciones para la presencia de esteatosis, actividad de la enfermedad y fibrosis²⁰. Por otro lado, para la evaluación y detección de la EHNA mediante marcadores circulantes se ha propuesto recientemente el

CHeK score, que utiliza la edad y los niveles séricos de HbA1C, GGT, adiponectina y M30, un marcador de apoptosis²¹.

Varios otros marcadores aislados se están evaluando actualmente en correlación con la EHNA, entre estos, la forma no clivada de M30, la citoqueratina 18 (CK18), otro marcador de apoptosis. Esta se ha asociado con EHNA con una sensibilidad de 66% y especificidad de 82%²²; y esta precisión podría ser potenciada por la determinación conjunta de los niveles del antígeno de superficie FAS (sFAS) también involucrado en la apoptosis²³. Por otro lado, el factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF21), una adipocina involucrada en metabolismo glucídico y lipídico, se ha observado elevado en la EHNA leve-moderada, con una caída marcada en los casos severos²⁴.

Aunque la diferencia fisiopatológica esencial entre el HGNA y la EHNA es la presencia de inflamación, la examinación de varios marcadores de inflamación —como el TNF, IL-6, IL-8 y la proteína C-reactiva (PCR), entre otros— ha demostrado no ser útil para su distinción diagnóstica, con poca sensibilidad y especificidad²⁵. No obstante, se ha observado que la ferritina, un marcador más distal de la inflamación, tiende a incrementar en los pacientes con EHNA y SM, y su elevado valor diagnóstico ha invitado propuestas para su inclusión en diversos paneles de evaluación²⁶. En la EHNA, la inflamación se acompaña de un incremento notorio del estrés oxidativo (EO). Algunos indicadores de EO también podrían ser beneficiosos, como demostrado en el *oxNASH score*, que incluye la relación ácido linoleico:ácido 13-hidroxi-octadecadienoico junto con la edad, el IMC y la AST, y ha producido áreas bajo la curva (ABC) oscilando entre 0,74-0,83 para la detección de EHNA²⁷. Por último, se ha reportado que el factor de transcripción FOXA1, también denominado factor nuclear de hepatocitos 3- α , se encuentra regulado en alza en los pacientes con EHNA y resistencia a la insulina, y podría actuar como marcador surrogado de EO. Sin embargo, debido a sus características como factor de transcripción, FOXA1 no es secretado a la circulación sérica, lo cual obstaculiza su uso práctico²⁸.

• *Biomarcadores de fibrosis*

La fibrosis es otro componente importante en el paso de HGNA a EHNA, y la severidad de la fibrosis se ha correlacionado de manera directa con la mortalidad, por cuanto su detección y monitoreo es esencial²⁹. La mayoría de los biomarcadores disponibles no pueden medir directamente los procesos fisiopatológicos de fibrogénesis o fibrinólisis, y por ende muestran baja precisión diagnóstica. En este escenario reganan prominencia las puntuaciones diagnósticas compuestas, siendo notables el *NAFLD fibrosis score* (NFS), el *Fibrosis-4 score* (FIB-4), el índice de relación AST: plaquetas (IRAP) y el score BARD, denominado así por sus siglas en inglés para IMC, relación AST: ALT y DM2³⁰.

El NFS es el mejor estudiado de estas alternativas. Incluye la relación AST: ALT, los niveles de albúmina, el recuento plaquetario, la edad, el IMC y la hiperglicemia. Ha exhibido excelente utilidad predictiva, y puede incluso prevenir la necesidad de biopsia hepática en numerosos pacientes¹⁵. El FIB-4 engloba los niveles de AST, ALT, plaquetas y la edad, y ha retornado VPN de más de 90%, y valores predictivos positivos (VPP) de hasta 82%, usando varios puntos de corte, lo cual además permite la estratificación de la gravedad de la fibrosis³¹. Por otro lado, el IRAP muestra precisión diagnóstica relativamente inferior, con ABC de 0,788 para la predicción de fibrosis avanzada; aunque ofrece el beneficio de su simplicidad y fácil aplicabilidad, por cuanto sólo requiere la determinación de dos parámetros³². El score BARD ha producido ABC de 0,81, con un VPN muy elevado de 96%, aunque su VPP es modesto³³. Por último, muy recientemente se ha presentado el score MACK-3, que incluye la estimación de la resistencia a la insulina mediante el índice HOMA, y los niveles de AST y CK18. Ha producido ABC de 0,80 y VPN de 100% para la EHNA fibrótica, y de 74% para la fase activa de la enfermedad³⁴.

Aunque en la evaluación de la fibrosis en el contexto de la EHNA preponderan actualmente los scores compuestos, es importante destacar que se han propuesto múltiples biomarcadores aislados con buena precisión diagnóstica. No obstante, su alto costo y la complejidad de las técnicas necesarias para

su determinación limitan su uso amplio³⁵. Entre estos, los niveles de ácido hialurónico, un componente fundamental en la matriz extracelular (MEC) ha mostrado una ABC de 0,87³⁶; mientras que el inhibidor tisular de la metaloproteinasa 1 (TIMP-1), un mediador involucrado en la degradación de la MEC, ha retornado ABC de 0,97³⁷. Para otros potenciales marcadores en esta categoría, como los niveles séricos de laminina, colágeno tipo IV e hialuronano, la evidencia es aún preliminar pero promisorio, mostrando grados variables de correlación con la progresión de la fibrosis en la EHNA³⁸.

CONCLUSIONES

El diagnóstico de la EHNA continúa siendo un problema clínico importante, con repercusiones severas para los pacientes, e implicaciones globales en salud pública. La profundización de la investigación sobre su etiopatogenia y la historia natural de la enfermedad ha permitido el desarrollo de numerosos biomarcadores que en el futuro podrían simplificar este proceso. No obstante, ninguna de las moléculas o scores compuestos que se han propuesto hasta la actualidad han logrado el poder diagnóstico suficiente para suplantar a la biopsia hepática, especialmente en términos de sensibilidad. El desarrollo acelerado de la medicina traslacional permite avizorar grandes avances en este campo en el futuro próximo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016;64(1):73-84.
2. Li L, Liu D-W, Yan H-Y, Wang Z-Y, Zhao S-H, Wang B. Obesity is an independent risk factor for non-alcoholic fatty liver disease: evidence from a meta-analysis of 21 cohort studies. *Obesity Reviews* 2016;17(6):510-9.
3. Park SK, Seo MH, Shin HC, Ryoo J-H. Clinical availability of nonalcoholic fatty liver disease as an early predictor of type 2 diabetes mellitus in Korean men: 5-year prospective cohort study. *Hepatology* 2013;57(4):1378-83.
4. Pais R, Barritt AS, Calmus Y, Scatton O, Runge T, Lebray P, et al. NAFLD and liver transplantation: Current burden and expected challenges. *J Hepatology* 2016;65(6):1245-57.
5. Ekstedt M, Nasr P, Kechagias S. Natural History of NAFLD/NASH. *Curr Hepatology Rep* 2017;16(4):391-7.
6. Singal AG, Mittal S, Yerokun OA, Ahn C, Marrero JA, Yopp AC, et al. Hepatocellular Carcinoma Screening Associated with Early Tumor Detection and Improved Survival Among Patients with Cirrhosis in the US. *Am J Med* 2017;130(9):1099-1106.e1.
7. Kanwar P, Kowdley KV. The Metabolic Syndrome and Its Influence on Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2016;20(2):225-43.
8. Rinella ME, Loomba R, Caldwell SH, Kowdley K, Charlton M, Tetri B, et al. Controversies in the Diagnosis and Management of NAFLD and NASH. *Gastroenterology* 2014;10(4):219-27.
9. Hashimoto E, Taniai M, Tokushige K. Characteristics and diagnosis of NAFLD/NASH: Non-invasive alternatives to liver biopsy. *J Gastroenterology* 2013;28:64-70.
10. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterology* 2018;15(1):11-20.
11. Dumitrascu DL, Neuman MG. Non-alcoholic fatty liver disease: an update on diagnosis. *Med Pharm Rep* 2018;91(2):147-50.
12. Benedict M, Zhang X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J Hepatology* 2017;9(16):715-732.

13. Drescher HK, Weiskirchen S, Weiskirchen R. Current Status in Testing for Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). *Cells*. 2019;8(8):845.
14. Vilar-Gomez E, Athinarayanan SJ, Adams RN, Hallberg SJ, Bhanpuri NH, McKenzie AL, et al. Post hoc analyses of surrogate markers of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and liver fibrosis in patients with type 2 diabetes in a digitally supported continuous care intervention: an open-label, non-randomised controlled study. *BMJ Open*. 2019;9(2):e023597.
15. Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, Sevastianova K, Bergholm R, Johansson LM, et al. Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fat Using Metabolic and Genetic Factors. *Gastroenterology*. septiembre de 2009;137(3):865-72.
16. Yip TC-F, Wong VW-S. How to identify patients with advanced liver disease in the community? *Hepatology*. 2017;66(1):7-9.
17. Yip TC-F, Ma AJ, Wong VW-S, Tse Y-K, Chan HL-Y, Yuen P-C, et al. Laboratory parameter-based machine learning model for excluding non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in the general population. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;46(4):447-56.
18. Lee J-H, Kim D, Kim HJ, Lee C-H, Yang JI, Kim W, et al. Hepatic steatosis index: A simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*. 2010;42(7):503-8.
19. Bedogni G, Kahn HS, Bellentani S, Tiribelli C. A simple index of lipid overaccumulation is a good marker of liver steatosis. *BMC Gastroenterol*. 2010;10(1):98.
20. Bedossa P, the FLIP Pathology Consortium. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014;60(2):565-75.
21. Canbay A, Kälisch J, Neumann U, Rau M, Hohenester S, Baba HA, et al. Non-invasive assessment of NAFLD as systemic disease—A machine learning perspective. Strnad P, editor. *PLOS ONE*. 2019;14(3):e0214436.
22. Kwok R, Tse Y-K, Wong GL-H, Ha Y, Lee AU, Ngu MC, et al. Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease - the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39(3):254-69.
23. Tamimi TIA-R, Elgouhari HM, Alkhouri N, Yerian LM, Berk MP, Lopez R, et al. An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis. *J Hepatol*. 2011;54(6):1224-9.
24. Yan H, Xia M, Chang X, Xu Q, Bian H, Zeng M, et al. Circulating fibroblast growth factor 21 levels are closely associated with hepatic fat content: a cross-sectional study. *PloS One*. 2011;6(9):e24895.
25. Neuman MG, Cohen LB, Nanau RM. Biomarkers in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2014;28(11):607-18.
26. Ajmera V, Perito ER, Bass NM, Terrault NA, Yates KP, Gill R, et al. Novel plasma biomarkers associated with liver disease severity in adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Baltim Md*. 2017;65(1):65-77.
27. Feldstein AE, Lopez R, Tamimi TA-R, Yerian L, Chung Y-M, Berk M, et al. Mass spectrometric profiling of oxidized lipid products in human nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *J Lipid Res*. 2010;51(10):3046-54.
28. Moya M, Benet M, Guzmán C, Tolosa L, García-Monzón C, Pareja E, et al. Foxa1 reduces lipid accumulation in human hepatocytes and is down-regulated in nonalcoholic fatty liver. *PloS One*. 2012;7(1):e30014.
29. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatcharoenwitthaya P, et al. Liver Fibrosis, but No Other Histologic Features, Is Associated with Long-term Outcomes of Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(2):389-397.e10.
30. Cheah MC, McCullough AJ, Goh GB-B. Current Modalities of Fibrosis Assessment in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Transl Hepatol*. 2017;5(3):261–271.
31. Kim D, Kim WR, Kim HJ, Therneau TM. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States. *Hepatol Baltim Md*. 2013;57(4):1357-65.

32. Kruger FC, Daniels CR, Kidd M, Swart G, Brundyn K, van Rensburg C, et al. APRI: a simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH. *South Afr Med J Suid-Afr Tydskr Vir Geneeskde*. 2011;101(7):477-80.
33. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut*. 2008;57(10):1441-7.
34. Chuah K, Wan Yusoff WNI, Sthaneshwar P, Nik Mustapha NR, Mahadeva S, Chan W. MACK - 3 (combination of hoMa, Ast and CK18): A promising novel biomarker for fibrotic non - alcoholic steatohepatitis. *Liver Int*. 2019;39(7):1315-24.
35. Wong VW-S, Adams LA, de Lédinghen V, Wong GL-H, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(8):461-78.
36. Lydatakis H, Hager IP, Kostadelou E, Mpousmpoulas S, Pappas S, Diamantis I. Non-invasive markers to predict the liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2006;26(7):864-71.
37. Abdelaziz R, Elbasel M, Esmat S, Essam K, Abdelaaty S. Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1 and 2 and Obesity Related Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Is There a Relationship. *Digestion*. 2015;92(3):130-7.
38. Santos VND, Leite-Mór MMB, Kondo M, Martins JR, Nader H, Lanzoni VP, et al. Serum laminin, type IV collagen and hyaluronan as fibrosis markers in non-alcoholic fatty liver disease. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Medicas E Biol*. 2005;38(5):747-53.