

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

PESQUISA DE ALUNO DE MESTRADO

**IMPACTO DA FIBROSE HEPÁTICA NA QUANTIFICAÇÃO DE ESTEATOSE PELO
EXAME ULTRASSONOGRÁFICO.**

MESTRANDO: Fabio Lucio Stahlschmidt

ORIENTADORA: Cristina Pellegrino Baena, PhD

CO-ORIENTADOR: Jean Rodrigo Tafarel, PhD

SUMÁRIO

1.RESUMO	página 3
2.INTRODUÇÃO.....	página 3
3.JUSTIFICATIVA.....	página 6
4.PROBLEMA E HIPÓTESE.....	página 7
5.OBJETIVO GERAL.....	página 7
6.OBJETIVO ESPECÍFICO.....	página 7
7.MÉTODO.....	página 7
8.RESULTADOS.....	página 10
9.DISSCUSSÃO.....	página 16
10.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	página 21
11.ANEXOS.....	página 29

TÍTULO DO PROJETO:

Impacto da fibrose hepática na quantificação de esteatose pelo exame ultrassonográfico.

OBJETIVO: Esteatose é a doença hepática difusa mais comum e demanda testes diagnósticos não invasivos para quantificação e monitorização de tratamento. O viés da fibrose hepática associada a esteatose tem potencial de reduzir a especificidade do exame ultrassonográfico para avaliar esteatose. O objetivo deste projeto é avaliar a possível influência da fibrose hepática na quantificação de esteatose pelo índice hepatorrenal.

MÉTODO: Os pesquisadores examinaram 89 pacientes com suspeita de esteatose hepática encaminhados para ultrassom em um serviço de imagem hospitalar de referência na cidade de Curitiba-PR, mediram o índice hepatorrenal para quantificar esteatose e realizaram elastografia hepática ultrassônica para detecção de fibrose. Os pesquisadores, então, compararam a quantificação da esteatose pelo índice hepatorrenal com a quantificação da esteatose por ressonância magnética através da técnica de espectroscopia de prótons em pacientes com e sem fibrose. Também foi criada a ROC (*receiver operating curve*) e calculado a área abaixo da curva para detectar a performance do índice hepatorrenal para diferenciar esteatose significativa de não significativa nos dois grupos.

RESULTADOS: No grupo (A - sem fibrose) a graduação da esteatose pelo ultrassom obteve alta correlação (73%) com a ressonância, já no grupo (B - com fibrose) a correlação foi baixa (33%). A área abaixo da curva ROC para detectar gordura significativa no grupo A foi 0.90 e no grupo B foi de 0.74.

CONCLUSÃO: A fibrose hepática tem impacto negativo na quantificação de esteatose pelo exame ultrassonográfico, reduzindo sua acurácia.

INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica é uma doença frequente, caracterizada por acúmulo de gordura em mais de 5% da massa de hepatócitos e compreende histologicamente a esteatose hepática não alcoólica e a esteatohepatite não alcoólica¹. A esteatose hepática não alcoólica é considerada a doença hepática mais comum no mundo ocidental, acometendo 20-30% da população geral e até 70-90% dos portadores de obesidade^{2,3}. Há maior morbidade cardiovascular, maior incidência de câncer e maiores taxas de complicações cirúrgicas em ressecções hepáticas nesta população^{3,4,5}.

A etiologia da esteatose hepática é multifatorial, envolvendo causas genéticas e ambientais e associação com a síndrome metabólica⁴. Tanto a esteatose hepática não alcoólica quanto a esteatohepatite não alcoólica podem evoluir com desenvolvimento de fibrose, sendo nesta mais rápida e mais frequente¹. Histologicamente a fibrose (F) pode ser classificada em numa escala de cinco níveis de acordo com a classificação proposta por Brunt⁶ para doença hepática gordurosa não alcoólica como segue na Tabela 1:

Estadio de Fibrose	Característica histológica
F0	ausência de fibrose
F1	fibrose perisinusoidal
F2	fibrose periportal
F3	fibrose em ponte (septos entre espaços portais)
F4	fibrose em ponte com nódulos de regeneração caracterizando cirrose

Tabela 1: classificação histológica de Brunt para fibrose hepática em doença hepática gordurosa não alcoólica.

Fibrose significativa é definida como grau de fibrose $\geq$ F2 e fibrose avançada é definida como grau de fibrose $\geq$ F3¹. A fibrose avançada propicia resistência ao fluxo venoso hepático e consequente hipertensão portal, a qual pode se associar a insuficiência hepática e complicações como: hemorragia digestiva alta varicosa, ascite, coagulopatias, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar e encefalopatia hepática⁷. Além disso, a esteatohepatite, mesmo sem a presença de fibrose avançada, é um fator de risco independente para o desenvolvimento de Hepatocarcinoma, o tumor primário hepático maligno mais comum^{1,2}. A fibrose hepática avançada causada por esteatohepatite não alcoólica é a terceira causa de indicação de transplante hepático nos Estados Unidos da América e tende a ser a primeira nos próximos anos⁸.

A identificação e a graduação da esteatose de maneira não invasiva é necessária, pois trata-se de uma doença prevalente, com implicações adversas e potencialmente reversível com tratamento⁹. Os exames laboratoriais utilizados para graduação dos pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica são as enzimas hepáticas, a fórmula para avaliar a resistência a insulina denominada modelo de avaliação da homeostase (HOMA-IR), o hemograma completo, o lipodograma e a dosagem de ácido úrico. Estes exames laboratoriais permitem cálculos de marcadores de fibrose com escores que dividem os pacientes baixo risco ou risco moderado/grave para o desenvolvimento de fibrose significativa ($F \geq 2$)¹. Entre os métodos de imagem para detectar gordura no fígado que não utilizam radiação ionizante estão a ressonância magnética e o ultrassom.

A quantificação da esteatose hepática por ressonância magnética no estado da arte atual é feita através medidas de densidade de prótons e espectroscopia de prótons¹⁰. Estas técnicas corrigem a interferência de vieses como por exemplo o acúmulo de ferro no

parênquima hepático denominado hepatosiderose¹¹. A ressonância magnética é mais fidedigna que a análise histológica para quantificação de esteatose quando ambas são comparadas com ensaio bioquímico¹². A espectroscopia de prótons baseia-se na quantificação de metabólitos dentro de um *voxel* (espaço tridimensional que representa o volume de um tecido ou órgão examinado por imagem) sendo que é a técnica mais sensível a pequenos acúmulos de gordura no fígado¹³.

A avaliação de esteatose pelo ultrassom é geralmente subjetiva, graduada de forma qualitativa^{14,15}, sendo acurado para demonstrar esteatose moderada e grave, porém tem baixa sensibilidade para detectar esteatose leve¹⁴. A sensibilidade do ultrassom para detectar esteatose leve pode ser melhorada com a análise quantitativa do índice hepatorenal¹⁶. A técnica do índice hepatorenal é baseada na medida de *pixels* entre a córtex do rim direito e o segmento hepático VI, por janela subcostal, não necessita de *software* específico, tem baixa variabilidade intra e inter observador e apresenta valor preditivo negativo alto para excluir presença de esteatose^{17,18,19}.

Por ser uma técnica de quantificação robusta, de fácil realização na prática clínica e validada em mais de um centro, a medida do índice hepatorenal se encaixa como ferramenta de rastreamento para esteatose e permite comparação quantitativa com o percentual de gordura obtido pela ressonância magnética. Entretanto, a maior parte dos estudos que avaliaram o índice hepatorenal não mencionaram o grau de fibrose hepática dos pacientes recrutados. Na prática clínica a detecção e quantificação da esteatose hepática pelo ultrassom não costuma alertar o médico solicitante da possível interferência da fibrose hepática que pode co-existir com a esteatose ou até mesmo substituí-la na evolução natural da doença¹.

A fibrose hepática pode ser medida de maneira não invasiva e com boa acurácia através da elastografia hepática ultrassônica^{20,21}. A tecnologia utilizada neste estudo para avaliar fibrose chama-se ARFI® - Siemens (*Acoustic Radiation Force Injury - Virtual Touch Quantification*), sendo que a mesma não sofre influência pela presença de esteatose e tem boa confiabilidade também em obesos^{23,24}. A elastografia ARFI baseia-se na medida de velocidade da onda de cisalhamento produzida por um impulso acústico no parênquima hepático denominada rigidez, quantificada em metros/segundo (m/s). Quanto mais rápido a onda se espalhar pelo fígado mais rígido é o tecido sendo que rigidez está diretamente relacionada com a presença de fibrose. O valor de corte de rigidez utilizado para diferenciar fibrose avançada (F3 e F4) foi de 1,78 m/s^{23,24}.

A biópsia hepática além de avaliar fibrose tem a vantagem de identificar atividade necro-inflamatória nos pacientes com doença hepática gordura não alcoólica diferenciando esteatose simples de esteatohepatite, porém, ela não é rotineiramente realizada devido aos seguintes inconvenientes: (A) mesmo quando adequada a biópsia representa apenas 1:50.000

de todo o fígado; sendo que a ressonância chega a cobrir uma área 300 vezes maior que a biópsia, dependendo da técnica empregada, (B) a biópsia hepática apresenta alta variabilidade inter observador (C) a biópsia hepática apresenta riscos de complicações como morbidade em torno de 0,5% e mortalidade em torno de 0,01%²⁵.

A detecção de fibrose avançada de maneira não invasiva nos pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica é de extrema importância por que pacientes com fibrose avançada possuem manejo diferente dos pacientes sem fibrose^{1,26,27,28}. Pacientes com fibrose avançada tem contra-indicação relativa para cirurgia bariátrica como tratamento de esteatohepatite e precisam ser alocados em programas de vigilância de detecção precoce de Hepatocarcinoma^{1,27}.

A fibrose hepática é citada de maneira controversa como fator que afetam a performance do exame ultrassonográfico para detectar e quantificar gordura no fígado^{29,30,31}. Considerando que o exame ultrassonográfico é um dos primeiros testes utilizados para avaliar pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica o possível viés de associação ou diagnóstico diferencial de fibrose avançada precisa ser melhor estudado, visto que a presença de fibrose é que prediz desenvolvimento de complicações e que possui maior impacto na mortalidade destes pacientes³².

Até a presente data não foi encontrado na literatura avaliação da influência da fibrose hepática na medida do índice hepatorrenal. O efeito da esteatose isolada e da esteatose acompanhada de fibrose na avaliação ultrassonográfica da esteatose requer mais estudos.

JUSTIFICATIVA

A presença de fibrose hepática avançada pode ser um viés na avaliação ultrassonográfica da esteatose, com impacto negativo na estratificação e manejo dos pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica. Considerando que o método diagnóstico mais utilizado para detecção e acompanhamento de esteatose hepática é o ultrassom e que rotineiramente não é realizada avaliação não invasiva concomitante de fibrose hepática, muitos pacientes podem estar sendo diagnosticados e graduados falsamente com esteatose simples quando apresentam fibrose hepática concomitante complicando a doença. Este projeto visa testar o impacto da fibrose hepática avançada na avaliação ultrassonográfica da esteatose hepática obtida através do índice hepatorrenal.

PROBLEMA E HIPÓTESE

Problema: O índice hepatorrenal é um dos métodos mais robustos para análise de esteatose hepática pelo exame ultrassonográfico, porém pode ser pouco acurado em pacientes com fibrose hepática concomitante.

Hipótese: A fibrose hepática influencia a medida do índice hepatorrenal, reduzindo a confiabilidade do mesmo.

OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da presença de fibrose hepática avançada na avaliação ultrassonográfica de esteatose.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Comparar a confiabilidade da medida do índice hepatorrenal com a graduação de esteatose hepática pela ressonância magnética através de espectroscopia de prótons por ressonância com o método HISTO® em pacientes com e sem fibrose avançada diagnosticados com elastografia ARFI®.

MÉTODO

Tipo de estudo: O estudo é transversal.

Participantes: A amostra foi de 89 pacientes com mais de 18 anos avaliados por ultrassom no Hospital Marcelino Champagnat referenciados com suspeita ou em acompanhamento de esteatose hepática no período de 12 meses.

Critérios de Inclusão e de exclusão:

Inclusão:

- Idade maior que 18 anos não gestantes.
- Pacientes com suspeita ou presença de esteatose hepática.
- Pacientes com ausência de hepatite B ou C crônicas Sorologias negativas para Hepatite B e C definidas como antígenos HbsAg negativo e anti-HCV negativo.

Exclusão:

- Portadores de marcapasso, cliques de aneurisma cerebral, implantes cocleares, implantes metálicos no corpo, bombas de infusão ou eletroestimuladores (motivo: contra-indicação para exame de ressonância)
- Pacientes claustrofóbicos. (motivo: contra-indicação para exame de ressonância)
- Pacientes com obstrução de vias biliares detectada pelo ultrassom (motivo: fator confusional na medida de fibrose hepática pelo exame ultrassonográfico)
- Pacientes com ingestão de bebida alcoólica maior que 120 gramas semanais na média dos últimos 3 meses (motivo: possibilidade de esteatohepatite de origem alcoólica com valor de elastografia não definido)
- Pacientes com insuficiência cardíaca descompensada (motivo: fator confusional na medida de fibrose hepática pelo exame ultrassonográfico)

- Pacientes com nefrectomia direita prévia com com atrofia renal direita (motivo: impossibilidade de avaliação do índice hepatorenal)
- Pacientes elevação de transaminases maior que 5 vezes o valor normal nos últimos três meses (motivo: indicador de inflamação grave como fator confusional na medida de fibrose hepática pelo exame ultrassonográfico³³)
- Pacientes com hepatosiderose detectada por ressonância (motivo: possível fator confusional na medida do índice hepatorenal).
- Pacientes com esteatose visualmente muito heterogênea no parênquima, por exemplo muito maior em alguns segmentos após aquisição das imagens localizadoras na ressonância (motivo: medida de gordura que possa não traduzir a medida do índice hepatorenal)

Local de Realização da Pesquisa

O local da pesquisa foi no Hospital Marcelino Champagnat e na clínica de diagnóstico por imagem Radioclínica, em Curitiba, PR.

Etapas

O projeto obteve aprovação pelo comitê de ética e pesquisa (Anexo 1).

Os pacientes receberam termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2) para preenchimento e assinatura, após esclarecidas eventuais dúvidas. Os dados antropométricos e epidemiológicos, as comorbidades dos pacientes e as medicações utilizadas nos últimos três meses foram anotadas. O preparo para o exame foi apenas jejum de 4 horas. Os pacientes foram examinados no ultrassom por um único radiologista experiente em imagem abdominal no hospital Marcelino Champagnat.

O índice hepatorenal foi medido em um único aparelho (S2000 HELX Siemens, Erlangen, Alemanha) na posição de decúbito dorsal ou lateral esquerdo após ajuste de ganho automático pelo aparelho, com ponto focal único na profundidade de referência do eixo longitudinal do rim direito. As aferições das regiões de interesse (ROI) foram feitas em estação de trabalho Osirix MD versão 1.6 (Pixmeo Sarl), no nível do ponto focal, evitando-se vasos e lesões, sendo então calculado a razão de brilho do parênquima hepático pelo córtex renal.

A medida de fibrose por elastografia ARFI, foi feita no segmento VIII evitando-se estruturas vasculares ou lesões, utilizando-se a mediana de pelo menos dez medidas que apresentaram a variação interquantil menor que 30 sendo considerado o valor de corte para fibrose clinicamente avançada ($\geq F3$) o valor maior que 1,78 m/s²².

Na mesma semana os pacientes foram examinadas com ressonância magnética, sendo que as imagens utilizaram o protocolo do *LiverLab* Siemens® em apenas um aparelho (1.5T Magnetom Aera Siemens, Erlangen Alemanha), primeiramente com imagens de todo o fígado utilizando a sequência Dixon no plano axial para avaliar o padrão de homogeneidade da

gordura no fígado e posteriormente com espectroscopia de prótons utilizando o software HISTO® - Siemens em voxel único de $2,0 \times 2,0 \times 2,0 \text{ cm}^3$ foi colocado numa porção homogênea do segmento hepático VIII com base em imagens localizadoras, evitando grandes vasos ou lesões. A aquisição foi feita com os seguintes parâmetros: TR, 3000; TE, 12, 24, 36, 48 e 72; Tempo de 10 ms; Largura de banda do receptor de 1200 Hz com 1024 pontos de leitura. Os valores de referência de fração de gordura em percentual foram calculados *in line* com correção do $R2$ (interferência do ferro) separada de picos de gordura e água, extrapolados para um TE de 0^{34,35}.

As imagens foram arquivadas em DVD (*Digital Video Disc*) no formato DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*) e depois transferidas para o sistema de arquivos *on line* (PACS - *Picture Archiving and Communication System*) do hospital Marcelino Champagnat, junto com o exame de ultrassom, também em formato DICOM.

Foram computadas as medidas do índice hepatorenal, rigidez por elastografia, percentual de gordura por ressonância, dosagem de ferro por ressonância, os dados de identificação, peso, estatura, etnia, escolaridade, índice de massa corpórea, presença ou não de diabetes referida pelo paciente, presença ou não de hipertensão arterial sistêmica referida pelo paciente, presença ou não de psoríase referida pelo paciente. Também foram computados os pacientes que utilizaram mais de 1,5 gramas de dose cumulativa de metotrexate.

A rigidez por elastografia que dividiu os pacientes em dois grupos (A): sem fibrose avançada e (B): com fibrose avançada pelo ponto de corte de 1,78 m/s.

Estes dados foram armazenados para que possam ser utilizados para outras análises futuras em um banco de dados utilizando Microsoft Excel® que ficará à disposição dos Comitês de Ética em Pesquisa Clínica.

Abaixo na Figura 1 o fluxograma do método:

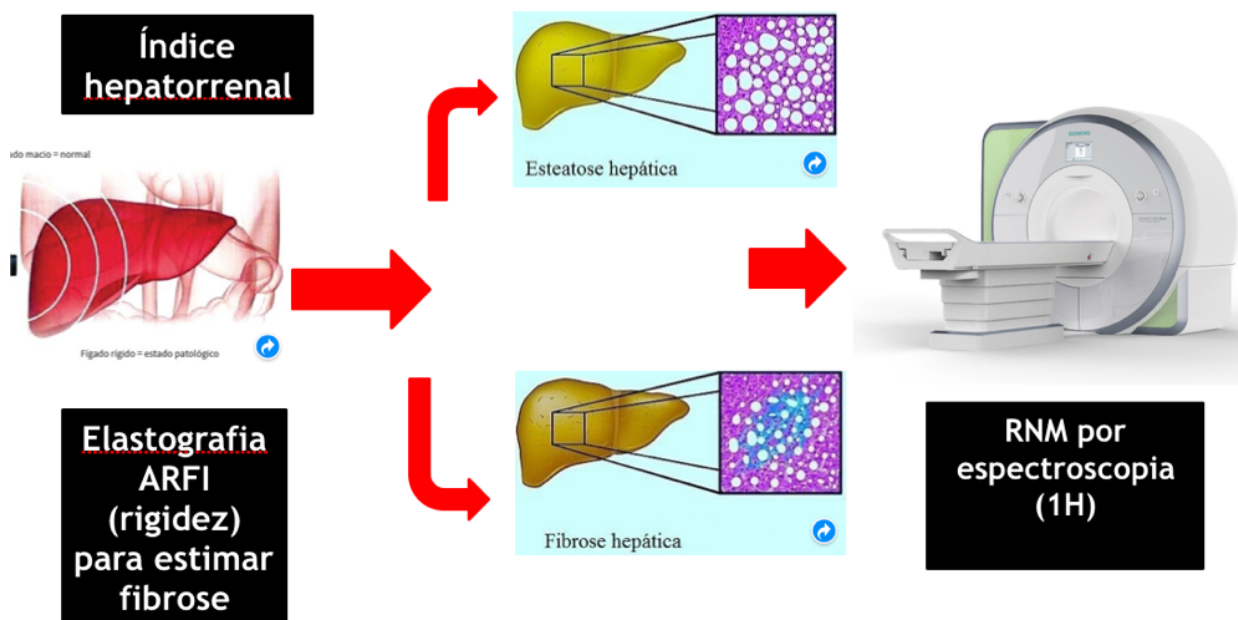


Figura 1: Fluxograma do método: os pacientes obtiveram a quantificação de gordura pelo exames ultrassonográfico e depois a análise de rigidez por elastografia que dividiu os pacientes nos grupos (A): sem fibrose avançada e (B): com fibrose avançada. Depois os pacientes obtinham a quantificação de gordura pela ressonância magnética como padrão de referência que foi comparada com a quantificação de gordura pelo ultrassom nos dois grupos. Nota: imagens modificadas da internet.

Análise estatística:

Os resultados obtidos no estudo foram descritos por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios padrões (variáveis quantitativas) ou por frequências e percentuais (variáveis categóricas). Para análise da associação entre das duas variáveis quantitativas de gordura sendo o índice hepatorenal pelo exame ultrassonográfico como variável explicativa e o percentual de gordura pela ressonância através de espectroscopia de prótons como variável resposta foram estimados coeficientes de correlação linear de Pearson nos dois grupos (A) : sem fibrose avançada (medida de rigidez $\leq 1,78$ m/s) e (B) : com fibrose avançada (medida de rigidez $> 1,78$ m/s). Também foram calculadas as curvas *ROC* (característica de operação do receptor) para diferenciação de percentual de gordura maior e menor que 15% nos dois grupos (A) sem fibrose avançada e (B) com fibrose avançada. A comparação entre grupos definidos pelas classificações de variáveis categóricas, em relação a variáveis quantitativas, foi feita usando-se o teste t de Student para amostras independentes. A condição de normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov Smirnov. Os dados foram analisados com o programa computacional IBM SPSS Statistics v.20.0. Armonk, NY: IBM Corp. Também foram construídos modelos de regressão linear para analisar o impacto das variáveis idade, obesidade, presença de diabetes mellitus e presença psoríase bem como do índice hepatorenal e da rigidez por elastografia para explicar percentual de gordura obtido pela ressonância magnética.

RESULTADOS

Impact of liver fibrosis in the ultrasonographic evaluation of steatosis

Fabio Lucio Stalhschmidt, Jean Rodrigo Tafarel, Carla Martinez Menini Stalhschmidt, Cristina Pellegrino Baena

Abstract

AIM: To evaluate the possible influence of liver fibrosis on steatosis measurement using hepatorenal index.

METHODS: Cross-sectional study with 89 patients with non-alcoholic fatty liver disease (liver steatosis quantified by ultrasonographic hepatorenal index and magnetic resonance spectroscopy) and whom liver fibrosis was determined by point shear wave elastography. We compared the Pearson's correlation coefficient between sonographic and resonance quantification of steatosis and the sonographic accuracy of detecting moderate to severe steatosis in two group of patients: (A) without advanced fibrosis; and (B) with advanced fibrosis defined as stiffness on ultrasonographic elastography ≥ 1.78 m/s. We also created a receiver operating characteristic curve and calculated the area under the curve (AUC) to detect the ability of the hepatorenal index to differentiate non-significant steatosis ($\leq 15\%$ fat fraction) from significant steatosis ($>15\%$ fat fraction). Finally, we constructed a linear model to estimate fat percentage including the hepatorenal index and stiffness.

RESULTS: The mean age was 54.6 ± 12.4 years and 59% were women, 50.6% were obese, 29.2% had significant steatosis (fat percentage $> 15\%$), and 38.2% had advanced fibrosis. There was correlation between steatosis gradation by ultrasonography and magnetic resonance in group A (0.73; $p < 0.001$), but not in Group B (0.33; $p = 0.058$). The AUC for detecting a steatosis fraction $\geq 15\%$ was 0.90 in group A and 0.74 in group B. The percentage of fat in our sample was estimated by the following model: Fat% = $-5.40 - 2.27$ (advanced fibrosis: 0 if no, 1 if yes) + 11.53 (hepatorenal index).

CONCLUSION: Fibrosis significantly reduces the accuracy of ultrasonographic liver steatosis quantification and our model could help to increase precision of fat percentage estimates in order to face the major public health burden of liver steatosis and its progression.

Keywords: Fatty liver; Ultrasonography; Elasticity Imaging Techniques; Magnetic resonance spectroscopy; Liver fibrosis

INTRODUCTION

Fatty liver disease is a frequent condition worldwide, affecting 20–30% of the general population and 70–90% of the obese population¹. Chronic liver damage in fatty liver disease evolves to fibrosis² which is classified as F1 to F4 (Brunt Score)³. Advanced fibrosis is defined clinically as stages F3 and F4⁴ and its consequences, such as variceal upper gastrointestinal bleeding and portal encephalopathy, are mainly related to portal hypertension⁵. Steatohepatitis, inflammation associated with steatosis, is an independent risk factor for the development of hepatocellular carcinoma⁶. Thus, the non-invasive detection and gradation of steatosis is urgently needed.

Ultrasonography and magnetic resonance imaging are the imaging modalities that do not use ionizing radiation to detect liver fat. Although ultrasonography is more widely performed

because of its lower cost and higher availability, magnetic resonance spectroscopy has excellent accuracy and is considered even more reliable than biopsy^{7,8}.

The hepatorenal index is a semiquantitative method of detecting steatosis in ultrasonography that improves its sensibility and has low interobserver variability^{9,10,11}. Nevertheless, most studies that evaluated the hepatorenal index did not test the presence of fibrosis in recruited patients. Fibrosis can coexist with steatosis and even substitute it in the natural evolution of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), possibly interfering in the ultrasonographic evaluation of steatosis^{12,13,14,15}.

The detection of fibrosis in patients with NAFLD is crucial since the presence of severe fibrosis can predict complications and death¹⁶. The gross features of advanced fibrosis on an ultrasound examination appear in a minority of patients with advanced fibrosis¹⁷. Fibrosis can be measured non-invasively by point shear wave elastography with good histological correlation without the influence of steatosis^{18,19,20}, even in obese patients^{21,22}. Therefore, it is possible to detect fibrosis non-invasively in patients without macroscopic features of advanced fibrosis in ultrasound examination. The importance of detecting fibrosis is that patients in advanced stage have relative contraindications to bariatric surgery and should be enrolled in a screening program for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma⁴. Considering that patients with versus patients without advanced fibrosis require different management strategies, the diagnosis of fibrosis, which complicates fatty liver disease, plays a crucial role in facing the burden of liver diseases.

As evidence is scarce on the direct influence of advanced fibrosis in the measurement of the hepatorenal index, the non-invasive evaluation of fatty liver disease combined with fibrosis requires more studies.

Objective

The objective of this study was to evaluate the possible negative impact of co-existing fibrosis in the semiquantitative detection of steatosis in ultrasonographic examinations.

METHODS

This is a cross-sectional study performed at Image Department of Hospital Marcelino Champagnat, Curitiba, Brazil, from September 2017 to February 2019, with patients with liver steatosis detected by upper abdominal ultrasonography and confirmed by magnetic resonance spectroscopy. Liver steatosis was quantified by hepatorenal index during the ultrasound examination.

The inclusion criteria were: presence of liver steatosis, age equal or up to 18 years, non-pregnant woman and no chronic B or C hepatitis.

After an initial workup to exclude viral infection in the included patients, we interviewed the patients and reviewed their medical data to evaluate the exclusion criteria. We divided the exclusion criteria into four categories: (A), (B), (C), and (D). Category (A) is related to confounding factors in the diagnosis of NAFLD: A1) possible alcohol-related liver disease (alcohol ingestion > 120 g/week over the previous 3 months; A2) possible hemochromatosis (patients with a liver iron concentration > 2 mg/g on T2 relaxometry resonance magnetic quantification). Category (B) is related to false positive results on elastography in the determination of advanced liver fibrosis²³: B1) patients with biliary dilatation on ultrasound examination; B2) patients with possible acute/subacute inflammation as a confounding factor for elastography measurements defined as elevated transaminases levels > 5 times the normal reference levels in the previous 3 months; B3) patients with possible hepatic congestion such as those with a history or signs of cardiac insufficiency (reduced compression of the inferior vena cava, pleural effusion, predominant sonography B lines on lung ultrasound). Category (C) is related to unreliable measures of hepatorenal index and on magnetic resonance spectroscopy: C1) patients with right nephrectomy or right renal atrophy; C2) patients with heterogeneous hepatic liver infiltration visible on magnetic resonance segmentation; and C3) patients with a sonography window on which it is difficult to measure the hepatorenal index or perform elastography. Category (D) is related to contraindications to performing magnetic resonance examination²⁴: D1) claustrophobic patients; and D2) those with pacemakers, cochlear implants, aneurysm clips, implanted infusion bombs, or electrostimulators.

This project was approved by Ethics Committee and all patients sign the Consent Form.

We documented the presence of co-morbidities as well as the patients' anthropometric and sociodemographic information.

Data collection

The data described above were documented after a detailed review of the patients' medical records and a direct interview of each patient before ultrasonographic evaluation. Each patient fasted for 4 hours prior to the exam. First, the radiologist performed a comprehensive thoracic and abdominal ultrasound examination. Next, a photo containing the longitudinal axis of the right kidney and the liver was obtained with the patient in the left lateral decubitus during a deep inspiration. Prior to examining the magnetic resonance results, one experienced abdominal radiologist calculated the hepatorenal index (ratio between liver and kidney brightness; Figure 1) on a workstation using Osirix MD version 1.6 (Pixmeo Sarl) after taking a 0.5–1.5 cm² region of interest brightness measurement at the same focal point in the liver and renal cortex.

The liver stiffness measurements were made using a single ultrasound machine (S2000 HELX; Siemens, Erlangen, Germany) using virtual touch tissue quantification (Acoustic Radiation Force Impulse; Siemens) in liver segment VIII at 2–6 cm from the liver capsule with the patient in the dorsal decubitus position with the right arm abducted under expiration apnea (Figure 2) by the same one experienced abdominal radiologist. The cut-off for advanced liver fibrosis in liver stiffness measure was 1.78 m/s in a median of at least 8 measurements with an interquartile range < 0.15^{19,25}.

After the ultrasound examination with steatosis estimated by hepatorenal index and fibrosis estimated by elastography, the patient underwent a magnetic resonance examination in the same week using only one magnetic resonance imaging machine (1.5T MAGNETOM Aera; Siemens). The iron concentration and fat fraction were measured using LiverLab software (Siemens) with the HISTO evaluation. The liver iron concentration was measured by T2 relaxometry, while the liver fat fraction was measured of a region of interest within hepatic segment VIII (Figure 1) using spectroscopy^{26,27}. The images were archived in Digital Imaging and Communications in Medicine format online in the hospital's picture archiving and communication system.

We managed inter observer variability by having only one experienced radiologist review all of the films. The hepatorenal index evaluation was performed before the magnetic resonance imaging results were determined to ensure that the radiologist was blinded to the gold standard test results at the time of the ultrasound examination. All patients were examined by the same scanners to avoid inter-manufacturer differences.

We performed a pilot analysis of the first 34 patients and we found significant differences in the ultrasonographic evaluation of steatosis between patients with and those without advanced liver fibrosis. Fifty-five more patients were enrolled for a total of 89 patients in the final statistical analyses.

Quantitative variables

The hepatorenal index (an absolute value) was measured using the ultrasound examination as the explanatory variable, while the fat quantification in the magnetic resonance examination (a percentage value) was considered the response variable in a linear regression model. The elastography stiffness measurement (m/s) was analysed as an explanatory variable in a linear regression model.

Statistical methods

The values are described as means, medians, minimum values, maximum values, and standard deviations (quantitative variables) or as frequencies and percentages (categorical variables). For the evaluation of the association between hepatorenal index (explanatory variable) and fat fraction (response variable), we performed multilinear regression models and es-

timated the linear coefficients. We also performed a receiver operating characteristic (ROC) analysis and calculated the area under the curve (AUC) of the ability of the hepatorenal index to differentiate non-significant steatosis (fat fraction $\leq 15\%$) from significant steatosis (fat fraction $> 15\%$).

Groups were defined as follows: (A) without significant fibrosis (stiffness < 1.78 m/s in elastography); and (B) with significant fibrosis (stiffness ≥ 1.78 m/s on elastography).

The intergroup comparison of hepatorenal index and fat fraction was made using Student's t test for independent samples. We tested the correlation coefficient between the hepatorenal index and fat fraction among groups separately for a stiffness < 1.78 m/s (without advanced fibrosis) and a stiffness ≥ 1.78 m/s (with advanced fibrosis). Linear regression models were also built to analyse the impact of the stiffness to explain the percentage of fat obtained by magnetic resonance imaging. We calculated the hepatorenal index cut-off point to detect significant steatosis (fat percentage $> 15\%$) in patients without advanced fibrosis using a two-graph ROC curve.

Sensitivity analyses were performed to verify the impact of psoriasis in the model to explain the liver fat percentage. Data were analysed using SPSS Statistics v. 20.0 software (IBM, Armonk, NY, USA).

RESULTS

Ninety-nine consecutive patients were referred for the study and eighty-nine patients who met the inclusion criteria underwent both ultrasonography and magnetic resonance imaging. (The selection criteria is presented in a flowchart in Figure 2).

The mean age was 54.6 ± 12.4 years; mostly female and white, half of the patients were obese, and hypertension was present in 40.6% as shown in Table 1.

In group A (patients without advanced fibrosis), the hepatorenal index showed strong correlation with a fat fraction of $R = 0.73$ ($p < 0.001$) and excellent accuracy to discriminate non-significant steatosis (fat fraction $\leq 15\%$) versus significant steatosis (fat fraction $> 15\%$) with an AUC = 0.90 ($p < 0.001$). In group B (patients with advanced fibrosis), the hepatorenal index had a weak correlation with fat fraction of $R = 0.33$ ($p = 0.058$) and lower accuracy to discriminate non-significant versus significant steatosis (fat fraction $\leq 15\%$) versus steatosis (fat fraction $> 15\%$) with an AUC = 0.74 ($p = 0.074$).

There was a direct correlation between hepatorenal index and liver fat fraction detected in magnetic resonance, but the accuracy was different in both groups as described in figure 3. The accuracy of the hepatorenal index to distinguish patients with a non-significant fat

percentage ($\leq 15\%$) from those with a significant fat percentage ($> 15\%$) was significantly higher in group A than in group B as described in figure 4.

Obesity and diabetes mellitus are common co-morbidities in patients with NAFLD in the context of metabolic syndrome¹⁶. Moreover, there is a high incidence of NAFLD in patients with psoriasis, but whether this is an epiphenomenon or an independent risk factor remains unknown²⁹. Thus, we performed a sensitivity test excluding these patients from the sample to verify if the presence of psoriasis could be a confounding factor, but the results did not change materially (data not shown, $p < 0.05$ for all).

The ideal cut-off point to detect significant steatosis (fat fraction $> 15\%$) in patients without advanced fibrosis was 1.69 with a sensitivity of 90.0% and specificity of 85.7%. Our linear regression model of quantitative measures of stiffness and fat percentage showed a negative inflection. We then built a model to estimate the percentage of fat considering the hepatorenal index and stiffness and found an adjusted R^2 of 41.3% and intercept value of -5,40 (Table 2). Our final model to predict the fat fraction using hepatorenal index and stiffness was determined using the formula: $\text{Fat}\% = -5,40 - 2,27 (\text{advanced fibrosis: } 0 \text{ if no, } 1 \text{ if yes}) + 11.53 (\text{hepatorenal index})$.

DISCUSSION

Our findings indicate a significant impact of fibrosis on the estimation of hepatic steatosis. The present study compared steatosis grades by ultrasonography using the hepatorenal index in two groups of patients (with and without advanced fibrosis) employing spectroscopy magnetic resonance. This result corroborates with the hypothesis that fibrosis is a confounding factor in the ultrasound gradation of steatosis¹⁵ and provides substantial evidence. Additionally, we went further and built the linear regression model for quantitative measures of stiffness and fat percentage showing a negative inflection line. One explanation for our findings is that this observation could be related to the substitution of fat for fibrosis in the evolution of NAFLD¹⁷.

The accuracy of the hepatorenal index to discriminate significant from non-significant steatosis was high in patients without advanced fibrosis. Hence, our results are in line with others showing the hepatorenal index as a valuable tool for the detection and gradation of fatty liver disease⁸. Moreover, we suggest that the estimation could be further improved using a linear model for the presence of advanced fibrosis. Other studies that evaluated the influence of hepatic fibrosis on the subjective quantification of steatosis obtained conflicting results such as negative interference¹³ or a lack of interference¹⁴. Our study quantitatively measured the interference of fibrosis on steatosis degree and showed a negative interference. Possible explanations for the different results from Palmentieri et al.¹⁴ are that their study used a

population with different etiologies of hepatic disease and no quantitative evaluation of steatosis in the ultrasound examination. Our study used only patients with NAFLD and hepatorenal index semiquantitative ultrasonography evaluation of steatosis.

Since the stiffness measurements taken on elastography are inversely correlated with the presence of fat in the liver, it was possible to build a linear model to estimate the fat percentage using the hepatorenal index corrected by the presence of advanced fibrosis. Thus, the percentage of fat can be graded more accurately by ultrasonography.

Ultrasonic elastography in NAFLD has some limiting factors such as the presence of severe acute inflammation, cholestasis, and concomitant liver diseases. Patients were carefully selected to exclude those with such factors from this study. However, since we did not examine the patients histologically, low-grade inflammation and the presence of rare liver diseases such as amyloidosis and glycogenosis could not be completely ruled out. Fat quantification by resonance included only one voxel in segment VIII; thus, the liver volume examination could have been sub-sampled. We minimized this limitation by obtaining whole-liver resonance images with the Dixon technique and excluding patients with visual heterogeneity fat liver infiltration. The same topography of segment VIII was used to measure ultrasonic elastography, which is commonly used for hepatic biopsies, from which the validation of the resonance measurement originated.

The main strength of our study is that, to our knowledge, it was the first to directly and quantitatively measure the interference of hepatic fibrosis in the hepatorenal index and provide a correction index that increases its accuracy. Considering that ultrasonography is widely used as the first tool to evaluate steatosis, the possibility of fibrosis associated with fat accumulation should be addressed before steatosis gradation is performed to prevent erroneous stratification.

Our findings suggest that fibrosis affects the ultrasonographic evaluation of steatosis. However the accessibility of ultrasonography for screening and monitoring patients with NAFLD remains a valuable imaging modality. Liver ultrasonography is a reliable and accurate test for the diagnosis of moderate to severe fatty liver, especially in patients without advanced fibrosis. For those patients with fibrosis, we propose a correction formula that may estimate the fat percentage with good correlation to magnetic resonance quantification results.

Other limitations of the present study include the pitfalls of the non-invasive evaluation of fibrosis through elastography²³ and the assessment of steatosis by resonance through a single region of interest in the hepatic segment VIII²⁶. This study was performed by a single radiologist using only single machines to avoid analytical bias. Even though, we did not test for interobserver or inter-machine variability. Data was gathered in a single private hospital, which could potentially limit the generalizability of our findings despite the main characteristics of our

studied population being in line with those of larger studies such as the cohort profile of the ELSA-Brazil study.³⁰

In conclusion, fibrosis had a negative impact on the ultrasonographic evaluation of steatosis, reducing its accuracy. The high incidence of NAFLD brings the need for non-invasive quantification however, the quantification of hepatic steatosis in the presence of concomitant fibrosis is biased. Therefore, the ultrasonographic evaluation of hepatic steatosis should consider the negative impact of the presence of associated fibrosis and correction should be employed to enhance the accuracy of fat percentage estimation in those patients.

Financial support: This study was partially supported by Radiochirurgie, Meria group, and Radioclinica.

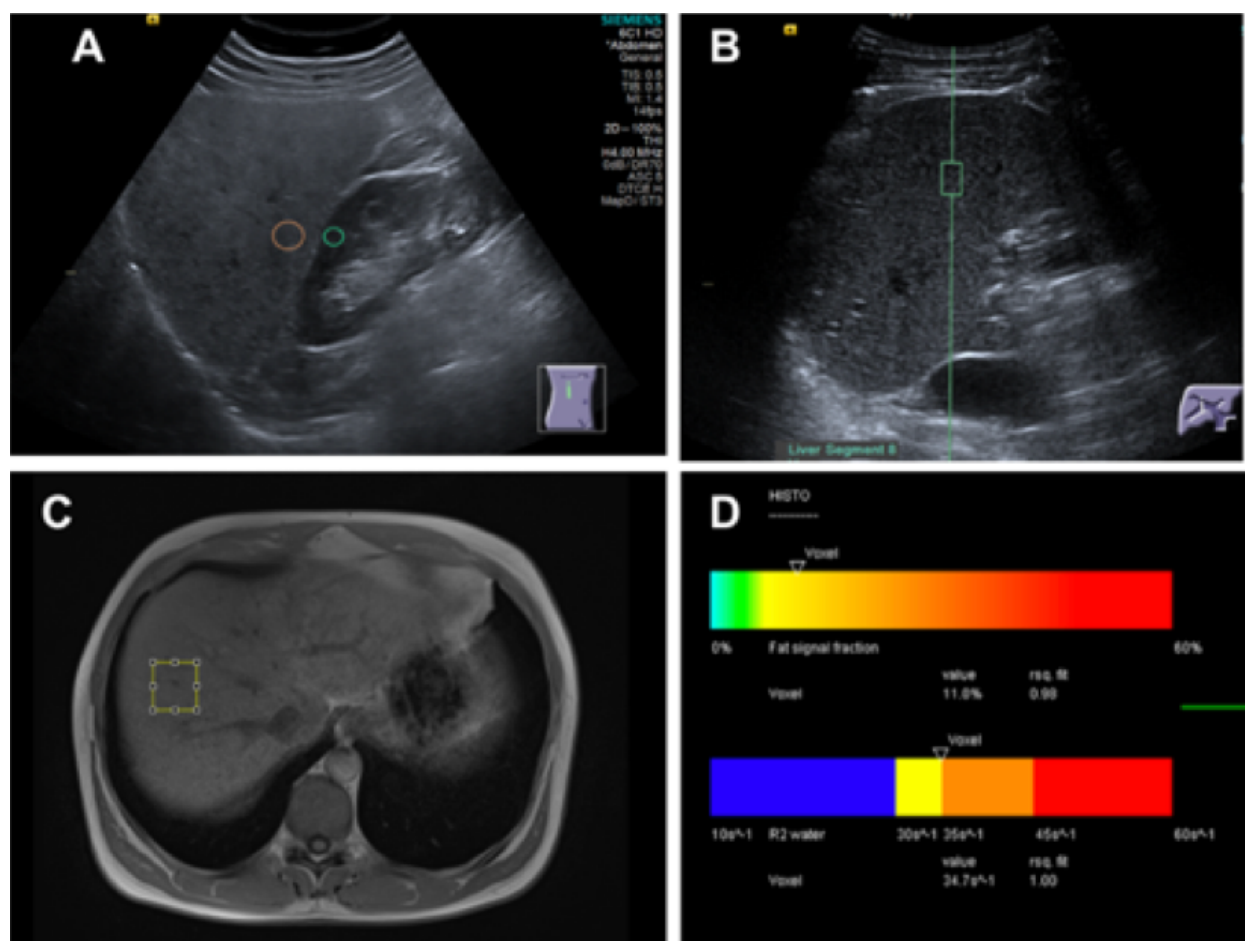


Figure 1: A) Hepatorenal Index measurement in a fat liver; B) Elastography measurement of liver stiffness; C) Spectroscopy voxel measurement in magnetic resonance; D) Fat fraction and iron relaxometry in LiverLab software. Author's source.

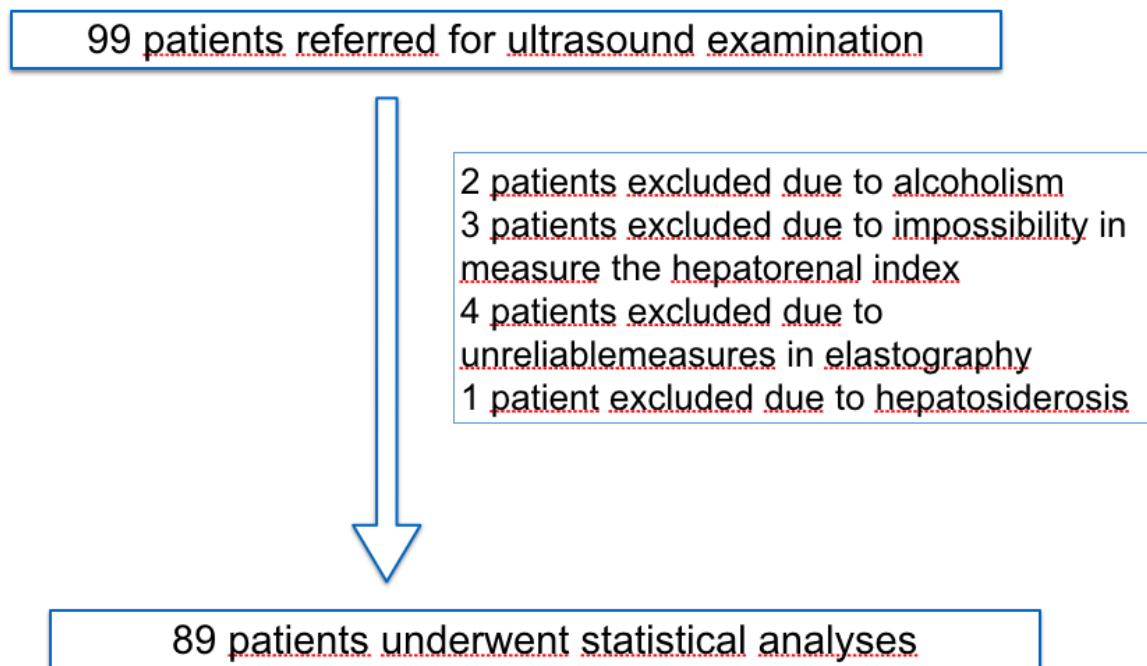


Figure 2: Flow chart of the studied population

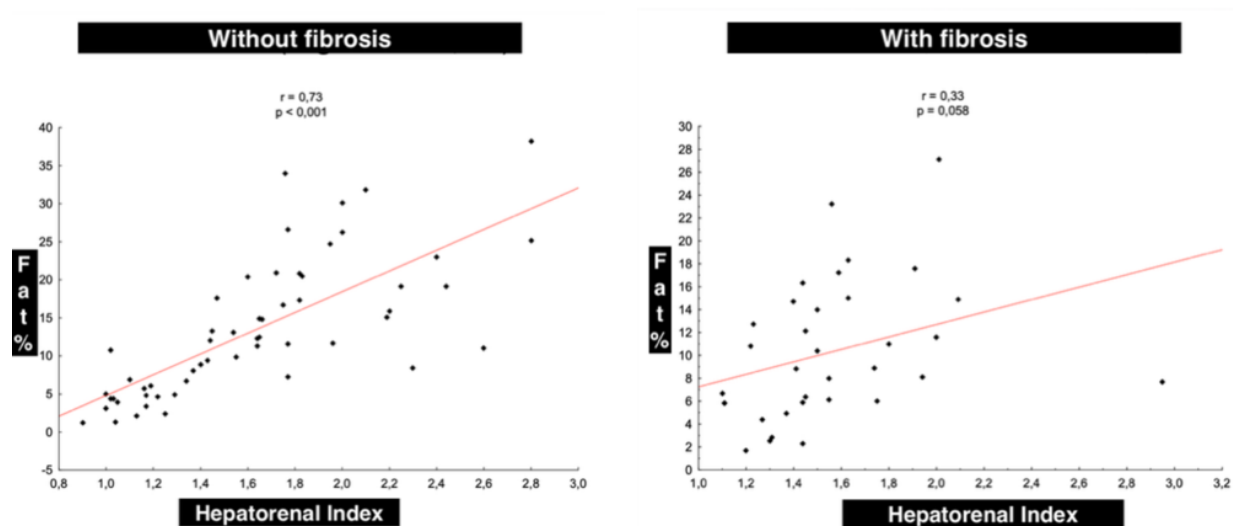


Figure 3: Comparative graphics with the distribution of the correlation between the hepatorenal index and the fat percentage of the groups considering the presence of advanced fibrosis.

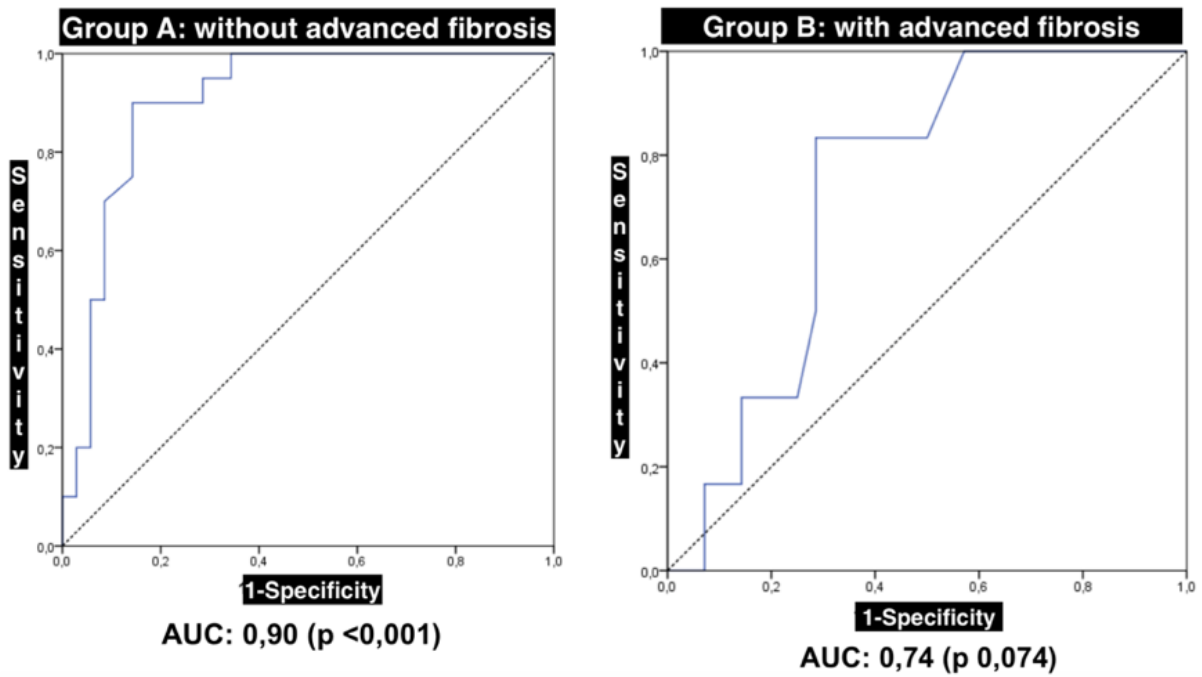


Figure 4: Comparative ROC curves for discrimination of non-light fat percentage in the liver using the hepatorenal index in both groups with and without advanced fibrosis.

REFERENCES

1. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G Meta-analysis: Natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. 2011 Dec;43(8):617-49. Epub 2010 Nov
2. Dam-Larsen S, Becker U, Franzmann MB, Larsen K, Christoffersen P, Bendtsen F. Final results of a long-term, clinical follow-up in fatty liver patients. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(10):1236-43.
3. Nalbantoglu I, Brunt E M. Role of biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul 21; 20(27): 9026–9037.
4. Sumida Y, Yoneda M. Current and future pharmacological therapies for NAFLD/NASH. *J Gastroenterol*. 2018 Mar;53(3):362-376.
5. Nusrat S, Khan S Muhammad, Fazili J, Madhoun M F. Cirrosis and ist complications: evidence based treatment *World J Gastroenterol*. 2014 May 14; 20(18): 5442–5460.
6. Stickel F, Hellerbrand C. Non-alcoholic fatty liver disease as a risk factor for hepatocellular carcinoma: mechanisms and implications. *Gut*. 2010 Oct;59(10):1303-7.
7. Raptis D A, Fischer M A, Graf R, Nanz D, Weber A, Moritz W, Tian Y, Oberkofler C E, Clavien P A. MRI: the new reference standard in quantifying hepatic steatosis? *Gut*. 2012 Jan; 61(1):117-27
8. Kramer K, Pickhardt P J, Kliewer M A, Hernando D, Chen G-H, Zagzebski J A, Reeder S B. Accuracy of liver fat quantification with advanced CT, MRI, and ultrasound techniques; Prospective comparison with MR spectrsocopy. *Am J Roentgenol* 2017 Jan; 208(1):92-100
9. Chauhan A, Sultan L R, Furth E E, Jones L P, Khungar V, Sehgal C M Diagnostic accuracy of hepatorenal index in the detection and grading of hepatic steatosis *J Clin Ultrasound* 2016 Nov 12; 44(9):580-586
10. Martín-Rodríguez J L, Arrebola J P, Jiménez-Moleón J J, Olea N, González-Calvin J L. Sonographic quantification of a hepato-renal index for the assessment of hepatic steatosis in comparison with 3T proton magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jan;26(1):88-94.
11. Shiralkar K, Johnson S, Bluth E I, Marshall R H, Dornelles A, Gulotta P M. Improved method for calculating hepatic steatosis using hepatorenal index. *J Ultrasound Med*. 2015 Jun; 34(6):1051-9

12. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati F L, Guallar E, Clark J M Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology*. 2011 Sep 2;54(3):1082-1090
13. Wang C C, Hsieh T C, Tseng T C, Wang P C, Hsu C S, Lin H H, Wang L Y, Kao J H. Factors affecting the diagnostic accuracy of ultrasonography in assessing the severity of hepatic steatosis. *J Formos Med Assoc*. 2014 Apr;113(4):249-54.
14. Palmentieri B, de Sio I, La Mura V, Massarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Dig Liver Dis*. 2006 Jul;38(7):485-9.
15. Karanjia R N, Crossey M N, Cox I J, Fye H K, Nike R, Goldin R D, Taylor-Robinson S D et al. Hepatic steatosis and fibrosis: Non-invasive assessment *World J Gastroenterol* 2016 Dec 7;22(45):9880-9897.
16. Hagström H, Nasr P, Eksted M, Hammar U, Stal P, Hultcrantz R, Kechagias S. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J Hepatol* Dec; 67(6):1265-1273
17. Horowitz J M, Venkatesh S K, Ehman R L, Jhaveri K, Kamath P, Ohliger M A, Samir A E, Silva A C, Taouli B, Torbenson M S Wells M L, Yeh B, Miller F H Evaluation of Hepatic Fibrosis: A Review from the Society of Abdominal Radiology Disease Focus Panel *Abdom Radiol (NY)* Aug; 42(8):2037-2053.
18. Lee S S, Park S H Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease *World J Gastroenterol*. 2014 Jun 21; 20(23): 7392–7402.
19. Masato Y, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, Saito S, Nakajima A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: US based Acoustic Radiation Force Impulse Elastography. *Radiology* Aug;256(2):640-7.
20. Jiang W, Huang S, Teng H, Wang P, Wu M, Zhou X, Ran H Diagnostic accuracy of point shear wave elastography and transient elastography for staging hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis *BMJ Open* 2018; 8:e021787 [DOI:10.1136/bmjopen-2018-021787]
21. Attia D, Bantel H, Lenzen H, Manns MP, Gebel MJ, Potthoff A Liver stiffness measurement using acoustic radiation impulse elastography in overweight and obese patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016 Aug;44(4):366-79.
22. Li Q, Dhyani M, Grajo J R, Sirlin C, Samir A E Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease *World J Hepatol* 2018 Aug 27; 10(8): 530–542.
23. Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, Bota S, Cantisani V, Cosgrove D, Ferraioli G, Friedrich-Rust M, Gilja OH, Goertz RS, Karlas T, de Knecht R, de Ledigen V, Piscaglia F, Saftoiu A, Sidhu

- PS, Sporen I, Thiele M. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Elastography, Update 2017 (Long Version). *Ultraschall Med* 2017 Aug;38(4):e16-e47.
24. Tsai L L, Grant A K, Morteale K J, Kung J W, Smith M P. A Practical Guide to MR Imaging Safety: What Radiologists Need to Know. *Radiographics* 2015 Oct;35(6):1722-37.
25. Yoneda M, Susuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, Saito S, Nakajima A. Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography. *Radiology* 2010 Aug;256(2):640-7.
26. Pineda N, Sharma P, Xu Q, Hu X, Vos M, Martin DR. Measurement of hepatic lipid: high-seed T2-corrected multi echo acquisition at 1H MR spectroscopy - a rapid and accurate technique. *Radiology* 2009 Aug;252(2):568-76.
27. Sellers R. MR LiverLab. MAGNETOM Flash, 2016 March;66:39-43. http://clinical-mri.com/wp-content/uploads/2016/11/How_I_do_it_LiverLab_Sellers_RSNA_MAGNETOM_Flash.pdf
29. Mantovani A, Gisoni P, Lonardo A, Targher G. Relationship between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Psoriasis: A Novel Hepato-Dermal axis? *Int J Mol Sci* 2016 Feb; 17(2):217.
30. Schmidt MI, Duncan BB, Mill JG, Lotufo PA, Chor D, Barreto SM, Aquino EM, Passos VM, Matos SM, Molina Mdel C, Carvalho MS, Bensenor IM. Cohort Profile: Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Int J Epidemiol*. 2015 Feb;44(1):68-75.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (Introdução, Justificativa, Problema e Hipótese, Objetivo geral, Objetivo específico e Método)

1. European Association for the Study of the Liver, European Association for the Study of Diabetes and European Association for the Study of Obesity. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology* 2016;64:1388-1402.
2. Stickel F, Hellerbrand C. Non-alcoholic fatty liver disease as a risk factor for hepatocellular carcinoma: mechanisms and implications. *Gut* 2010 Jul;59:303-1307.
3. Dam-Larsen S, Becker U, Franzmann MB, Larsen K, Christoffersen P, Bebdtsen F. Final results of a long-term, clinical follow-up in fatty liver patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2009;44:1236–1243.
4. Sumida Y, Yoneda M. Current and future pharmacological therapies for NAFLD/NASH. *J Gastroenterol* 2018 Mar;53(3):362-376.
5. Reeta V, Vliet A, Gouma DJ, van Gulik, TM. Steatosis as a Risk Factor in Liver Surgery. *Annals of Surgery* 2007 Jan;245(1):20-30.
6. Nalbantoglu I, Brunt EM. Role of biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014 Jul;(27):9026-9037.

7. Nusrat S, Khan MS, Fazili J, Madhoun MF. Cirrhosis and its complications: Evidence based treatment. *World J Gastroenterol* 2014 May;20(18):5442-5460.
8. Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*, 2011 Oct;141 (4):1249-53.
9. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: Natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*, 2011 Dec;43(8):617-49.
10. Yokoo T, Serai SD, Pirasteh A, Bashir MD, Hamilton G, Hernando D et al. Linearity, Bias and Precision of Hepatic Proton Density Fat Fraction Measurements by Using MR Imaging: A Meta-Analysis. *Radiology* 2018 Feb;286(2):486-498.
11. LI Q, Dhyani M, Grajo JR, Sirlin C, Samir AE. Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol* 2018 Aug;10(8):530-542.
12. Raptis DA, Fischer MA, Graf R, Nanz D, Weber A, Moritz W et al. MRI: the new reference standard in quantifying hepatic steatosis? *Gut* 2012 Jan;61(1):117-27.
13. Kramer H, Pickhardt PJ, Kliwer MA, Hernando D, Chen GH, Zagzebski JA, Reeder SB. Accuracy of Liver Fat Quantification With Advanced CT, MRI, and Ultrasound Techniques: Prospective Comparison With MR Spectroscopy *American Journal of Roentgenology*. 2017;208:92-100.
14. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, Clark JM. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology* 2011 Sep;54(3):1082-1090.
15. Mustapic S, Zita S, Matic V, Bokun T, Radic B, Lucijanic M et al. Ultrasound Grade of Liver Steatosis Is Independently Associated with the Risk of Metabolic Syndrome. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2018 Aug 23;2018:8490242.
16. Webb M, Yeshua H, Zelber-Sagi S, Santo E, Brazowski E, Halpern Z, Oren R Diagnostic value of a computerized hepatorenal index for sonographic quantification of liver steatosis. *American Journal of Roentgenology* 2009;192:909–914.
17. Shiralkar K, Johnson S, Bluth EI, Marshall RH, Dornelles A, Gulotta PM. Improved method for calculating hepatic steatosis using the hepatorenal index. *J Ultrasound Med*. 2015 Jun; 34(6):1051-9.
18. Martín-Rodríguez JL, Arrebola JP, Jiménez-Moleón JJ, Olea N, González-Calvin JK. Sonographic quantification of a hepato-renal index for the assessment of hepatic steatosis in comparison with 3T proton magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jan;26(1):88-94.

19. Marcello M, Prinster A, Annuzzi G, Liuzzi R, Giacco R, Medagli C et al. Sonographic hepatic-renal ratio as indicator of hepatic steatosis comparison with ¹H Magnetic Resonance Spectroscopy. *Metabolism Clinical and Experimental* 2009 Dec;58(12):1724-1730.
20. Younossi ZM, Loomba R, Anstee QM, Rinella ME, Bugianesi E, Marchesini G et al. Diagnostic Modalities for Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD), Non-alcoholic Steatohepatitis (NASH) and Associated Fibrosis. *Hepatology* 2018 Jul;68(1):349-360.
21. Karanjia RN, Crossey MME, Cox IJ, Fye HKS, Niue R, Goldin RD, Taylor-Robinson SD. Hepatic steatosis and fibrosis: Non-invasive assessment *World J Hepatol* 2016 Dec;22(45):9880-9897.
22. Yoneda M, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: US based Acoustic Radiation Force Impulse Elastography. *Radiology* 2010;256(2):640-647.
23. Attia D, Bantel H, Lenzen H, Manns MP, Gebel MJ, Potthoff A. Liver stiffness measurement using acoustic radiation force impulse elastography in overweight and obese patients *Aliment Pharmacol Ther* 2016 Aug;44(4):336-379.
24. Jiang W, Huang S, T Hua, Wang P, Wu M, Zhou X, Ran H. Diagnostic accuracy of point shear wave elastography and transient elastography for staging hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *British Medical Journal Open* 2018;8:e021787.
25. Sumida Y, Nakajima A, Itoh Y. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis *World J Gastroenterol*. 2014 Jan 14;20(2):475–485.
26. Arab JP, Arrese M, Trauner M. Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 2018 Jan;24(13):321-350.
27. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018;67(1):328-357.
28. Ballestri S, Nascimbeni F, Baldelli E, Marrazzo A, Romagnoli D, Targher G, Leonardo A. Ultrasonographic fatty liver indicator detects mild steatosis and correlates with metabolic/histological parameters in various liver diseases. *Metabolism*. 2017 Jul;72:57-65.
29. Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *Am J Roentgenol* 2007 Dec;189(6):320-323.
30. Wang CC, Hsieh TC, Tseng TC, Wang PC, Hsu CS et al. Factors affecting the diagnostic accuracy of ultrasonography in assessing the severity of hepatic steatosis. *J Formos Med Assoc* 2014;113:249-254.

31. Palmentieri B, de Sio I, La Mura V, Masarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Dig Liver Dis* 2006 Jul;38(7):485-489.
32. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stal P, Hultcrantz R, Kechagias S. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *Journal of Hepatology* 2017 Dec;67(6):1265–1273.
33. Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, Bota S, Cantisani V, Castera L, et al. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version) *Ultraschall Med* 2017 Aug;38(4):16-47.
34. Nashiely P, Sharma P, Xu Q, Hu X, Vos M, Martin DR. Measurement of Hepatic Lipid: High-Speed T2 Corrected Multiecho Acquisition at 1 HMR Spectroscopy - A Rapid and Accurate Technique *Radiology* 2009 Aug;252(2):568-76
35. Sellers, Robert. MR LiverLab. MAGNETON Flash, 2016 March;66:39-43.
36. Mukaka M M. A guide to appropriate use of correlato coefficient in medical research *Malawi Medical Journal* 24(3):69-71. Setembro 2012.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (Resultados)

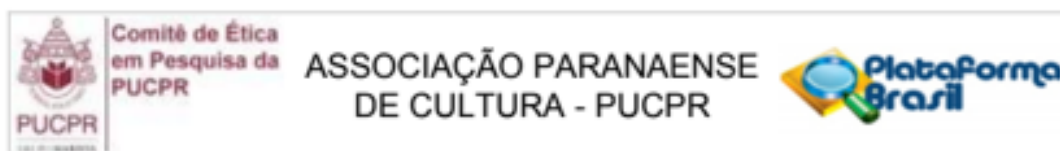
1. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G Meta-analysis: Natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. 2011 Dec;43(8):617-49. Epub 2010 Nov
2. Dam-Larsen S, Becker U, Franzmann MB, Larsen K, Christoffersen P, Bendtsen F. Final results of a long-term, clinical follow-up in fatty liver patients. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(10):1236-43.
3. Nalbantoglu I, Brunt E M. Role of biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul 21; 20(27): 9026–9037.
4. Sumida Y, Yoneda M. Current and future pharmacological therapies for NAFLD/NASH. *J Gastroenterol*. 2018 Mar;53(3):362-376.
5. Nusrat S, Khan S Muhammad, Fazili J, Madhoun M F. Cirrosis and ist complications: evidence based treatment *World J Gastroenterol*. 2014 May 14; 20(18): 5442–5460.
6. Stickel F, Hellerbrand C. Non-alcoholic fatty liver disease as a risk factor for hepatocellular carcinoma: mechanisms and implications. *Gut*. 2010 Oct;59(10):1303-7.
7. Raptis D A, Fischer M A, Graf R, Nanz D, Weber A, Moritz W, Tian Y, Oberkofler C E, Clavien P A. MRI: the new reference standard in quantifying hepatic steatosis? *Gut*. 2012 Jan; 61(1):117-27

8. Kramer K, Pickhardt P J, Kliewer M A, Hernando D, Chen G-H, Zagzebski J A, Reeder S B. Accuracy of liver fat quantification with advanced CT, MRI, and ultrasound techniques; Prospective comparison with MR spectroscopy. *Am J Roentgenol* 2017 Jan; 208(1):92-100
9. Chauhan A, Sultan L R, Furth E E, Jones L P, Khungar V, Sehgal C M Diagnostic accuracy of hepatorenal index in the detection and grading of hepatic steatosis *J Clin Ultrasound* 2016 Nov 12; 44(9):580-586
10. Martín-Rodríguez J L, Arrebola J P, Jiménez-Moleón J J, Olea N, González-Calvin J L. Sonographic quantification of a hepato-renal index for the assessment of hepatic steatosis in comparison with 3T proton magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2014 Jan;26(1):88-94.
11. Shiralkar K, Johnson S, Bluth E I, Marshall R H, Dornelles A, Gulotta P M. Improved method for calculating hepatic steatosis using hepatorenal index. *J Ultrasound Med.* 2015 Jun; 34(6):1051-9
12. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati F L, Guallar E, Clark J M Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology.* 2011 Sep 2;54(3):1082-1090
13. Wang C C, Hsieh T C, Tseng T C, Wang P C, Hsu C S, Lin H H, Wang L Y, Kao J H. Factors affecting the diagnostic accuracy of ultrasonography in assessing the severity of hepatic steatosis. *J Formos Med Assoc.* 2014 Apr;113(4):249-54.
14. Palmentieri B, de Sio I, La Mura V, Massarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Dig Liver Dis.* 2006 Jul;38(7):485-9.
15. Karanjia R N, Crossey M N, Cox I J, Fye H K, Nike R, Goldin R D, Taylor-Robinson S D et al. Hepatic steatosis and fibrosis: Non-invasive assessment *World J Gastroenterol* 2016 Dec 7;22(45):9880-9897.
16. Hagström H, Nasr P, Eksted M, Hammar U, Stal P, Hultcrantz R, Kechagias S. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J Hepatol* Dec; 67(6):1265-1273
17. Horowitz J M, Venkatesh S K, Ehman R L, Jhaveri K, Kamath P, Ohliger M A, Samir A E, Silva A C, Taouli B, Torbenson M S Wells M L, Yeh B, Miller F H Evaluation of Hepatic Fibrosis: A Review from the Society of Abdominal Radiology Disease Focus Panel *Abdom Radiol (NY)* Aug; 42(8):2037-2053.
18. Lee S S, Park S H Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease *World J Gastroenterol.* 2014 Jun 21; 20(23): 7392–7402.

19. Masato Y, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, Saito S, Nakajima A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: US based Acoustic Radiation Force Impulse Elastography. *Radiology* Aug;256(2):640-7.
20. Jiang W, Huang S, Teng H, Wang P, Wu M, Zhou X, Ran H Diagnostic accuracy of point shear wave elastography and transient elastography for staging hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis *BMJ Open* 2018; 8:e021787 [DOI:10.1136/bmjopen-2018-021787]
21. Attia D, Bantel H, Lenzen H, Manns MP, Gebel MJ, Potthoff A Liver stiffness measurement using acoustic radiation impulse elastography in overweight and obese patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016 Aug;44(4):366-79.
22. Li Q, Dhyani M, Grajo J R, Sirlin C, Samir A E Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease *World J Hepatol* 2018 Aug 27; 10(8): 530–542.
23. Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, Bota S, Cantisani V, Cosgrove D, Ferraioli G, Friedrich-Rust M, Gilja OH, Goertz RS, Karlas T, de Knegt R, de Ledigen V, Piscaglia F, Saftoiu A, Sidhu PS, Sporen I, Thiele M. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Elastography, Update 2017 (Long Version). *Ultraschall Med* 2017 Aug;38(4):e16-e47.
24. Tsai L L, Grant A K, Morteale K J, Kung J W, Smith M P. A Practical Guide to MR Imaging Safety: What Radiologists Need to Know. *Radiographics* 2015 Oct;35(6):1722-37.
25. Yoneda M, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, Saito S, Nakajima A Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography *Radiology* 2010 Aug;256(2):640-7
26. Pineda N, Sharma P, Xu Q, Hu X, Vos M, Martin DR Measurement of hepatic lipid: high-seed T2-corrected multi echo acquisition at 1H MR spectroscopy - a rapid and accurate technique. *Radiology* 2009 Aug;252(2):568-76.
27. Sellers R. MR LiverLab. MAGNETON Flash, 2016 March;66:39-43. http://clinical-mri.com/wp-content/uploads/2016/11/How_I_do_it_LiverLab_Sellers_RSNA_MAGNETOM_Flash.pdf
29. Mantovani A, Gisondi P, Lonardo A, Targher G Relationship between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Psoriasis: A Novel Hepato-Dermal axis? *Int J Mol Sci* 2016 Feb; 17(2):217.
30. Schmidt MI, Duncan BB, Mill JG, Lotufo PA, Chor D, Barreto SM, Aquino EM, Passos VM, Matos SM, Molina Mdel C, Carvalho MS, Bensenor IM Cohort Profile: Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Int J Epidemiol.* 2015 Feb;44(1):68-75.

ANEXOS:

1:



Continuação do Parecer: 2.211.249

clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEP em qualquer tempo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_940015.pdf	03/07/2017 15:57:40		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	03/07/2017 15:57:15	Cristina Pellegrino Baena	Aceito
Declaração do Patrocinador	VivaHMC.pdf	03/07/2017 15:56:04	Cristina Pellegrino Baena	Aceito
Declaração do Patrocinador	Radioclinica.pdf	03/07/2017 15:55:52	Cristina Pellegrino Baena	Aceito
Declaração do Patrocinador	Radiochir.pdf	03/07/2017 15:54:59	Cristina Pellegrino Baena	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao.pdf	03/07/2017 15:53:55	Cristina Pellegrino Baena	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	03/07/2017 15:52:10	Cristina Pellegrino Baena	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	03/07/2017 15:52:00	Cristina Pellegrino Baena	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Imaculada Conceição 1155

Bairro: Prado Velho

CEP: 80.215-901

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3271-2103

Fax: (41)3271-2103

E-mail: nep@pucpr.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - HOSPITAL MARCELINO CHAMPAGNAT

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do estudo INFLUÊNCIA DA FIBROSE HEPÁTICA NA AVALIAÇÃO DE ESTEATOSE PELO ÍNDICE HEPATORRENAL e que tem como objetivo avaliar a performance do ultrassom na graduação de esteatose hepática. Acreditamos que ela seja importante porque o exame de ultrassom é mais acessível que o de ressonância podendo ser ferramenta poderosa não só na detecção como na graduação desta doença.

PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

A minha participação no referido estudo será de ser submetido a exame de ultrassom e de ressonância magnética sem utilização de contraste, com tempo de duração de 20 minutos cada aproximadamente sendo o Ultrassom realizado no hospital Marcelino Champagnat e a ressonância na Radioclínica.

RISCOS E BENEFÍCIOS

Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como obter diagnóstico mais preciso das alterações do fígado e colaborar para que mais pacientes recebam este exame com maior grau de confiabilidade. Recebi, também que é possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos como os exames demorarem mais tempo a serem realizados e sofrer de claustrofobia (medo de lugares fechados) no exame de ressonância. Dos quais medidas serão tomadas para sua redução, tais como procurar logística de tempo aceitável e suspender o exame de ressonância caso seja descoberta claustrofobia.

SIGILO E PRIVACIDADE

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo. Os pesquisadores se responsabilizam pela guarda e confidencialidade dos dados, bem como a não exposição dos dados de pesquisa.

AUTONOMIA

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação. Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo.

RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO

Caso eu tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, tais como transporte, alimentação entre outros, bem como a meu acompanhante (se for o caso), haverá ressarcimento dos valores gastos na forma seguinte: em dinheiro.

De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, conforme determina a lei.

RUBRICA DO SUJEITO DE PESQUISA

RUBRICA DO PESQUISADOR

2 (continuação)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Hospital Marcelino Champagnat Pág. 2/2

CONTATO

O pesquisador envolvido com o referido projeto é o médico Fabio Lucio Stalhschmidt e com ele poderei manter contato pelo telefone 41-999206061

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) é composto por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Se você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR (CEP) pelo telefone (41) 3271-2292 entre segunda e sexta-feira das 08h00 às 17h30 ou pelo e-mail nep@pucpr.br.

DECLARAÇÃO

Declaro que li e entendi todas as informações presentes neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tive a oportunidade de discutir as informações deste termo. Todas as minhas perguntas foram respondidas e eu estou satisfeito com as respostas. Entendo que receberei uma via assinada e datada deste documento e que outra via assinada e datada será arquivada nos pelo pesquisador responsável do estudo.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

USO DE IMAGEM

Autorizo o uso das imagens dos meus exames para fins da pesquisa, sendo seu uso restrito

Dados do participante da pesquisa	
Nome:	
Telefone:	
e-mail:	

Local, ____ de ____ de ____.

\

Assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do Pesquisador

NÚMERO DO QUARTO DE PESQUISA

NÚMERO DO PESQUISADOR