



Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

Ana Margarida Pereira Mezias

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(Mestrado Integrado)

Orientador: Professor Doutor Jorge Luiz dos Santos

Setembro de 2022

Declaração de Integridade

UNIVERSIDADE
BEIRA INTERIOR

ANEXO

Declaração de Integridade

Eu Ana Margarida Pereira Mezas, que abaixo assino, estudante com número de inscrição 37368 de/o Medicina da Faculdade Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridade da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, e que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assim assumo na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 28 / 09 / 2020

Ana Margarida Pereira Mezas

(assinatura conforme Cartão de Cidadão ou preferencialmente assinatura digital no documento original se naquele mesmo formato)

Dedicatória

Aos meus pais, pelo apoio, força e motivação que sempre me transmitiram ao longo destes anos, ensinando-me o quão importantes são, na vida, a perseverança, a integridade e o respeito pelo próximo.

À minha irmã, a minha eterna melhor amiga e a pessoa com quem posso partilhar todos os meus pensamentos, opiniões e ideias, e que me compreende sem serem necessárias palavras. Para sempre, o meu porto de abrigo e a minha fonte de inspiração.

Às minhas amigas que me acompanharam nestes 6 anos de curso e com as quais criei recordações muito felizes, fazendo nascer sorrisos mesmo nas alturas mais difíceis. Obrigada pelo companheirismo e pela entreaajuda, pela boa disposição e pela bondade. Aprendi muito convosco.

Agradecimentos

Um especial agradecimento ao meu orientador, por todas as suas sugestões e por todo o apoio e auxílio que me deu ao longo da redação da dissertação. Estou muito grata pela sua ajuda.

Resumo

Introdução: A Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (NAFLD) constitui a principal patologia hepática crônica na faixa pediátrica a nível mundial, à semelhança do que se verifica na população adulta, em decorrência da epidemia global da obesidade. Considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica, consiste num espectro de patologias que varia de esteatose simples a esteatohepatite (NASH), com potencial progressão para cirrose, insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular, mas apresenta igualmente repercussões sistêmicas. A importância da detecção atempada de NAFLD tem fomentado a pesquisa, nos últimos anos, de ferramentas não invasivas de diagnóstico que possam ser mais apelativas para as crianças face à biópsia hepática, o método padrão-ouro, invasivo, não desprovido de complicações e com critérios específicos de aplicação. Relativamente ao tratamento, as medidas de alteração do estilo de vida constituem a primeira linha, mas tem aumentado a pesquisa de medidas farmacológicas que possam complementar as primeiras.

Objetivos: O objetivo desta revisão bibliográfica é a abordagem do atual estado da arte relativo à NAFLD Pediátrica, no que concerne aos dados epidemiológicos, mecanismos de etiologia e patogénese, apresentação clínica, diagnóstico e tratamento.

Materiais e métodos: A presente monografia foi realizada através da pesquisa bibliográfica de artigos científicos na base de dados «PubMed/MEDLINE», a partir das palavras-chave «NAFLD», «children», «etiopathogenesis», «diagnosis» e «treatment», com limitação do período temporal aos últimos 10 anos. Foram selecionados artigos de revisão, diretrizes e ensaios clínicos (preferencialmente randomizados), redigidos em inglês, e constituíram critérios de exclusão artigos prévios ao intervalo temporal referido, redigidos em outros idiomas, assim como estudos pré-clínicos, fundamentados em modelos animais e celulares.

Resultados: A informação contemplada nos artigos selecionados permitiu a compreensão de que a pesquisa acerca desta temática se tem revelado profícua, mas que muita da evidência relativa a ferramentas não invasivas de diagnóstico e ao tratamento ainda não é passível de ser aplicada na prática clínica, por ausência de validação, sendo necessários mais estudos.

Conclusão: É importante que, futuramente, continue a pesquisa relativamente à origem da NAFLD Pediátrica, às ferramentas não invasivas de diagnóstico e às potenciais opções terapêuticas. Idealmente, deverão ser realizados mais ensaios clínicos, com amostras maiores e durante um intervalo temporal mais prolongado, de modo que os resultados

obtidos sejam mais precisos e passíveis de constituírem evidência sólida. Relativamente à história natural, não completamente elucidada, devem ser efetuados mais estudos coorte retrospectivos que acompanhem as crianças e os adolescentes por longos períodos, para que se possa compreender mais claramente as consequências a longo prazo e a extensão em que estas ocorrem.

Palavras-chave

NAFLD; Crianças; Etiopatogénese; Diagnóstico; Tratamento

Abstract

Introduction: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is the main chronic liver disease in the pediatric population worldwide, similarly to what happens in the adult population, due to the global epidemic of obesity. Considered the hepatic manifestation of the metabolic syndrome, it consists of a spectrum of pathologies that ranges from simple steatosis to steatohepatitis (NASH), with potential progression to cirrhosis, liver failure and hepatocellular carcinoma, but has also systemic repercussions. The importance of a timely detection of NAFLD has encouraged research, in recent years, for non-invasive diagnostic tools that may be more indicated for children compared to liver biopsy, the gold-standard, invasive method, not devoid of complications and with specific criteria for application. Regarding treatment, measures to change lifestyle are the first line, but the search for pharmacological measures that can complement the first has increased.

Objectives: The aim of this bibliographic review is to address the current state of the art concerning Pediatric NAFLD, in terms of epidemiological data, mechanisms of etiology and pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and treatment.

Methodology: This monograph was carried out through a bibliographic search of scientific articles in the «PubMed/MEDLINE» database, using the keywords «NAFLD», «children», «etiopathogenesis», «diagnosis» and «treatment», published within the last 10 years. Review articles and clinical trials (preferably randomized) written in English were selected. Articles prior to the mentioned time interval, written in other languages, as well as pre-clinical studies based on animal and cellular models were exclusion criteria.

Results: The information included in the selected articles allowed us to understand that research on this topic has proved to be fruitful, but that much of the evidence relating to non-invasive diagnostic tools and treatment is still not capable of being applied in clinical practice, for lack of validation, requiring further studies.

Conclusion: It is important that, in the future, research continues regarding the origin of Pediatric NAFLD, non-invasive diagnostic tools and potential therapeutic options. Ideally, more clinical trials should be carried out, with larger samples and over a longer period of time, so that the results obtained are more accurate and likely to constitute solid evidence. Regarding the natural history, which is not fully elucidated, further retrospective cohort studies should be carried out that follow children and adolescents for long periods, so that the long-term consequences and the extent to which they occur can be more clearly understood.

Keywords

NAFLD; Children; Etiopathogenesis; Diagnosis; Treatment

Índice

Declaração de Integridade.....	iii
Dedicatória.....	iv
Agradecimentos	v
Resumo.....	vii
Palavras-chave.....	viii
Abstract	ix
Keywords.....	x
Lista de Figuras	xv
Lista de Tabelas.....	xvii
Lista de Acrónimos e Abreviaturas	xix
1.Introdução.....	1
2.Objetivos	3
3.Materiais e métodos	4
4.Resultados	5
4.1 Dados epidemiológicos.....	5
4.2 Patogénese de NAFLD Pediátrica	5
4.2.1 Influência pré-natal	6
4.2.2 Regime alimentar após o nascimento.....	7
4.2.3 Microbiota intestinal	7
4.2.4 Fatores Genéticos	8
4.2.5 Hormonas sexuais	9
4.2.6 Regime dietético	9
4.2.7 Obesidade.....	10
4.2.8 Stress oxidativo e Lipotoxicidade.....	10
4.2.9 Insulinorresistência.....	11
4.3. Apresentação clínica	11
4.4Diagnóstico.....	12
4.4.1Diagnóstico não invasivo de NAFLD.....	14
4.4.1.1Testes laboratoriais:	14
4.4.1.2Técnicas de Imagiologia	18
4.4.2 Diagnóstico invasivo de NAFLD.....	22
4.5 Tratamento	24
4.5.1 Medidas Não Farmacológicas: Modificação do Estilo de Vida	24

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

4.5.2 Fármacos em experimentação para o tratamento de NAFLD em Pediatria	25
4.5.3 Cirurgia bariátrica.....	32
5.Conclusão.....	35
6.Referências	36

Lista de Figuras

Figura 1– Padrão esteatótico. Hematoxilina-eosina, magnificação 200 x.....	23
Figura 2 – Algoritmo de diagnóstico e gestão de NAFLD Pediátrica.....	34

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Genes e suas variantes associados ao desenvolvimento de NAFLD Pediátrica.....	8
Tabela 2 – Dados clínicos úteis para o diagnóstico diferencial da esteatose hepática em idade pediátrica.....	13
Tabela 3 – Scores de previsão de fibrose hepática estudados em Pediatria.....	16,17,18
Tabela 4 –Escore Ultrassonográfico de Esteatose.....	19
Tabela 5 – Efeito combinado da vitamina E com outros agentes sobre a NAFLD Pediátrica.....	27
Tabela 6 – Indicações para Cirurgia Bariátrica.....	33

Lista de Acrónimos e Abreviaturas

AA	Ácido Araquidónico
AH	Ácido Hialurónico
ALT	Alanina Aminotransferase
APRI	AST/platelet Index
ARFI	Acoustic Radiation Impulse Imaging
AST	Aspartato Aminotransferase
AUROC	Area Under the Receiver Operating Characteristic
A1AT	Alfa-1-antitripsina
CAP	Controlled Attenuation Parameter (Parâmetro de Atenuação Controlada)
CCR2	C-C Chemokine Receptor Type 2
CCR5	C-C Chemokine Receptor Type 5
CK-18	Citoqueratina 18
DCV	Doença Cardiovascular
DHA	Ácido docosahexaenóico
DMII	Diabetes Mellitus tipo 2
ECR	Ensaio Clínico Randomizado
EHA	Ácido eicosapentaenóico
ELF Test	Enhanced Liver Fibrosis Test
ERO	Espécies Reativas de Oxigénio
FGF-21	Fibroblast Growth Factor 21 (Fator de Crescimento dos Fibroblastos 21)
FIB-4Index	Fibrosis-4 Index
FXR	Farnesoid X Receptor (Recetor Farnesoide X)
GCKR	Glucokinase Regulator (Regulador da Glicocinase)
GCKRP	Glucokinase Regulatory Protein
GGT	Gama Glutamil Transferase
GLP-1	Glucagon-like peptide-1 (Péptido semelhante a glucagon 1)
HDL-c	High Density Lipoprotein Cholesterol (Lipoproteína de Alta Densidade)
HTA	Hipertensão Arterial
HTX	Hidroxitirosol
IFALD	Intestinal Failure Associated Liver Disease
IMC	Índice de Massa Corporal
LCPUFA	Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids (Ácidos Gordos Polinsaturados de Cadeia Longa)
LDL-c	Low Density Lipoprotein Cholesterol (Lipoproteína de Baixa Densidade)

LDN	Lipogénese de Novo
LSN	Limite Superior do Normal
MAFLD	Metabolic Associated Fatty Liver Disease
MRE	Magnetic Resonance Elastography (Elastografia por Ressonância Magnética)
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MRI-PDF	Magnetic Resonance Imaging-Proton Density Fat Fraction
MRS	Magnetic Resonance Spectroscopy (Espectroscopia por Ressonância Magnética)
NAFL	Nonalcoholic Fatty Liver (Fígado Gordo Não Alcoólico)
NAFLD	Nonalcoholic Fatty Liver Disease (Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica)
NAS	NAFLD Activity Score
NASH	Nonalcoholic Steatohepatitis (Esteatohepatite Não Alcoólica)
NFS	NAFLD Fibrosis Score
OCA	Obeticholic Acid (Ácido Obeticólico)
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 (Inibidor do Ativador de Plasminogénio Tipo 1)
PIIINP	Procollagen III N-terminal Peptide (Péptido N-terminal do Procolagénio III)
PNFI	Pediatric NAFLD Fibrosis Index
PNFS	Pediatric NAFLD Fibrosis Score
PNPLA3	Patatin-like Phospholipase Domain-containing Protein 3 (Proteína 3 contendo o domínio fosfolipase tipo patatina)
PPARα/δ	Peroxisome proliferator-activated receptor α/δ (Recetor Ativado por Proliferadores Peroxissomais Tipo α/δ)
PRO-C3	Precursor C3-protein (Precursor da Proteína C3)
RCIU	Restrição de Crescimento Intrauterino
SAOS	Síndrome de Apneia Obstrutiva do Sono
SCFA	Short-chain Fatty Acid (Ácido Gordo de Cadeia Curta)
sFas	Soluble Fas (Fas solúvel)
sFasL	Soluble Fas Ligand (Ligando de Fas solúvel)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Polimorfismo de Nucleótido Único)
SWE	Shear Wave Elastography (Elastografia por Ondas de Cisalhamento)
TC	Tomografia Computorizada
TE	Transient Elastography (Elastografia Transitória)

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

TG	Triglicerídeos
TIMP-1	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1 (Inibidor tecidual da metaloproteinase 1)
TM6SF2	Transmembrane 6 Superfamily Member 2 (Gene humano da superfamília 2 transmembrana 6)
UDCA	Ursodeoxycholic Acid (Ácido Ursodesoxicólico)
UPR	Unfolded Protein Response
VLDL-c	Very Low Density Lipoprotein Cholesterol (Lipoproteína de Densidade Muito Baixa)

1. Introdução

Doença hepática gordurosa não alcoólica na população pediátrica: uma realidade emergente

A doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD) pediátrica está a converter-se, devido à epidemia global crescente da obesidade, na patologia hepática crónica mais frequente nas crianças e adolescentes, em particular nos países ocidentais. (1, 2)

A NAFLD pediátrica define-se pela presença de esteatose hepática crónica em crianças (≤ 18 anos), detetada por técnicas de imagem ou por histologia, na ausência de consumo etílico e após exclusão de outras causas secundárias de acumulação hepática de gordura.(3-5) Em termos histológicos, varia de fígado gorduroso (NAFL), com esteatose simples, a esteatohepatite não alcoólica (NASH).(3, 6)

A NAFL implica a presença de 5% ou mais de esteatose hepática sem dano hepatocelular associado.(5) Previamente considerada benigna, sabe-se agora que a esteatose isolada pode favorecer evolução para fases mais avançadas de NAFLD.(7)

Por sua vez, a NASH requer 5% ou mais de esteatose hepática, com inflamação lobular e dano hepatocelular (sob a forma de degeneração balonizante), com ou sem fibrose associada.(5) De natureza dinâmica, pode regredir para esteatose isolada ou evoluir para fibrose, cirrose, insuficiência hepática e, raramente, para carcinoma hepatocelular.(2, 8)

A NAFLD é considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica, constituída pelos critérios de obesidade, insulinoresistência, hipertensão arterial e dislipidemia.(2, 4, 5) Dado que a maioria dos indivíduos com fígado gorduroso apresenta disfunção metabólica concomitante, alguns autores têm adotado a terminologia *Metabolic Associated Fatty Liver Disease* (MAFLD).(9)

Na população pediátrica, o número limitado de estudos longitudinais prospetivos acerca da progressão da NAFLD resulta em que aspetos da história natural não estejam completamente elucidados, como a idade de início da patologia, as repercussões hepáticas a longo prazo e o prognóstico.(1, 6, 10, 11)

É expectável que, nos próximos 10 anos, a NAFLD pediátrica se torne na principal causa de insuficiência hepática e uma importante indicação para transplante hepático, nas crianças e adolescentes do mundo ocidental.(12)

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

2.Objetivos

O objetivo desta revisão bibliográfica é a abordagem do atual estado da arte relativo à NAFLD Pediátrica, no que concerne aos dados epidemiológicos, mecanismos de etiologia e patogênese, apresentação clínica, diagnóstico e tratamento.

3. Materiais e métodos

A presente monografia foi realizada através da pesquisa bibliográfica de artigos científicos na base de dados «PubMed/MEDLINE», a partir das palavras-chave «NAFLD», «children», «etiopathogenesis», «diagnosis» e «treatment», com limitação do período temporal aos últimos 10 anos. Foram selecionados artigos de revisão, diretrizes e ensaios clínicos (preferencialmente randomizados), redigidos em inglês, e constituíram critérios de exclusão artigos prévios ao intervalo temporal referido, redigidos em outros idiomas, assim como estudos pré-clínicos, fundamentados em modelos animais e celulares.

4. Resultados

4.1 Dados epidemiológicos

A NAFLD tem verificado, nas últimas décadas, um aumento exponencial em resultado da prevalência crescente da obesidade e de Diabetes Mellitus II (DM II) em crianças e adultos, em conjunto com o envelhecimento populacional, sendo a sua prevalência global de aproximadamente 25%.(13-15)

Na população pediátrica, a prevalência geral é de 3-10% nas crianças e de 17% nos adolescentes. Porém, nas crianças obesas, pode alcançar os 40-70%.(1, 2, 4) Nas crianças não obesas, a literatura é limitada, sendo a prevalência variável: de 1,5% segundo diagnóstico ecográfico a 5% nas avaliações de autópsias.(13)

A prevalência é variável consoante as diferentes áreas geográficas, sendo a prevalência menor em África (cerca de 5%) e superior na América do Sul e nos países do Médio Oriente (cerca de 25%).(14-16) Tal como observado na população adulta, a prevalência é superior no sexo masculino face ao feminino, num rácio de 2:1 na população pediátrica.(9, 13, 17, 18)

O risco de NAFLD é superior em determinados subgrupos, nomeadamente em crianças obesas entre os 11 e os 13 anos de idade, do sexo masculino, com tolerância diminuída à glicose, apneia obstrutiva do sono, pan-hipopituitarismo e etnia hispânica. Os adolescentes hispânicos têm um risco cerca de 4 vezes superior de esteatose e, neste grupo étnico, as crianças de ascendência mexicana demonstraram a maior incidência de NAFLD.(3, 18, 19)

A prevalência de NAFLD pediátrica varia consoante as abordagens de rastreio e os métodos de diagnóstico aplicados, não havendo uniformidade relativamente a estes. (18) Somente a biópsia hepática permite uma averiguação detalhada, mas o seu uso limitado faz com que a verdadeira prevalência permaneça desconhecida.(2)

4.2 Patogénese de NAFLD Pediátrica

O fígado é fundamental na regulação dos lípidos no organismo, estando o fluxo lipídico alterado na NAFLD. Em circunstâncias normais, pelo equilíbrio entre os mecanismos de síntese e eliminação de triglicédeos, o conteúdo lipídico perfaz menos de 5% do peso hepático.(6)

Porém, na NAFLD, ocorre um aumento inapropriado da taxa de lipogénese *de novo* (LDN), e a produção hepática de triglicédeos em excesso não é compensada pela

exportação dos mesmos através das lipoproteínas VLDL, ocorrendo consequente acumulação hepática de gordura.(6)

A acumulação hepática de triglicerídeos verificada na esteatose simples não é, em si, hepatotóxica, e evidência crescente sugere que pode constituir um mecanismo protetor contra a lipotoxicidade hepática.(4, 20, 21)

Todavia, o influxo aumentado de ácidos gordos livres para o fígado observado na NAFLD, favorece, através do stress oxidativo, a geração de produtos lipotóxicos, com disfunção dos organelos dos hepatócitos, inflamação hepática característica de NASH e progressão para formas avançadas de patologia. (4, 21, 22)

Relativamente aos mecanismos inerentes à patogénese de NAFLD pediátrica, estes não se encontram inteiramente elucidados. Segundo a teoria atualmente mais aceite, a «*multiple hit model*», a acumulação hepática de gordura é favorecida pela obesidade e pela insulinoresistência, e influenciada por interações entre fatores genéticos e ambientais que fomentarão a progressão da patologia.(2, 4, 8)

Em seguida, referem-se os principais fatores de risco implicados.

4.2.1 Influência pré-natal

O aumento da prevalência de NAFLD nas populações mais jovens sugere que esta possa ter uma origem pré-natal, em que alterações do ambiente intrauterino acarretam aumento do risco futuro de patologia.(23)

A obesidade materna, a diabetes gestacional, a síndrome metabólica e a restrição de crescimento intrauterino (RCIU) podem constituir fatores pré-natais implicados na patogénese de NAFLD pediátrica.(19, 23, 24)

Estudos demonstram um aumento no armazenamento de gordura hepática na descendência de mães obesas, tendo sido verificada uma correlação direta entre o índice de massa corporal (IMC) materno e o conteúdo lipídico hepatocelular neonatal medido por ressonância magnética (MRI).(14, 23, 25)

A diabetes gestacional, associada a insulinoresistência materna aumentada e estimulação da secreção fetal de insulina, promove a adiposidade neonatal por indução de lipogénese de novo (LDN). Igualmente, favorece inflamação placentária, com consequente stress oxidativo no fígado fetal. Através destes mecanismos, aumenta o risco futuro de patologia na descendência.(23)

A RCIU constitui outro fator de risco, existindo uma associação entre o estado «pequeno para a idade gestacional» e futura esteatose hepática grave na infância.(19, 23) Estudos sugerem que será o rápido padrão de crescimento após RCIU, ao invés do baixo peso à nascença per si, o promotor de risco aumentado de patologia.(26)

4.2.2 Regime alimentar após o nascimento

O papel desempenhado pelo regime nutricional após o nascimento não se encontra completamente elucidado. Estudos sugerem que o aleitamento materno pode ter um efeito protetor contra a NAFLD, ao promover a colonização e o desenvolvimento da microbiota intestinal no recém-nascido.(13, 17, 23, 27)

O estudo longitudinal prospectivo Raine averiguou a associação entre fatores maternos e o regime nutricional após o nascimento, e o subsequente risco de NAFLD na descendência. Neste, observou-se que os adolescentes cujo aleitamento materno exclusivo foi mais prolongado (6 ou mais meses) apresentaram menor prevalência de NAFLD, e que a introdução precoce de fórmula láctea (antes dos 6 meses) aumentou o risco futuro de patologia. Porém, os resultados podem ter sido influenciados pelo IMC materno. Igualmente, a natureza observacional do estudo não permite estabelecer uma relação de causalidade entre as variáveis.(27)

Assim, é necessária mais investigação para se estabelecer evidência concreta.(27)

4.2.3 Microbiota intestinal

A colonização do intestino do recém-nascido, estéril, pelas microbiotas materna e ambiental, é fundamental para a aquisição de defesas contra agentes patogénicos e para a indução de tolerância imune.(17, 28)

A disbiose intestinal, ao induzir a disrupção da homeostase do eixo intestino-fígado, aumenta o risco de NAFLD e da sua progressão, independentemente da presença de obesidade. Fatores protetores contra a disbiose incluem o parto vaginal, aleitamento materno, prevenção do nascimento prematuro e evicção da utilização de antibioterapia durante a infância.(17, 28) Atualmente, sabe-se que o aumento da diversidade da microbiota ao longo da idade, verificado em crianças com peso normal, não ocorre em crianças com excesso de peso, estando a obesidade associada a imaturidade da microbiota.(17) Para além deste achado, estudos mostram que na população pediátrica, o decréscimo na «diversidade α da microbiota» constitui o padrão de disbiose mais consistente.(13, 17)

A disbiose intestinal favorece o desenvolvimento de NAFLD através de mecanismos como a disrupção da barreira intestinal, a produção endógena de etanol, a alteração do metabolismo dos ácidos biliares e a diminuição dos níveis de *short-chain fatty acids* (SCFAs) como o butirato.(17)

4.2.4 Fatores Genéticos

A predisposição para a NAFLD pediátrica resulta da interação de influências ambientais sobre variantes genéticas que aumentam a suscetibilidade a esta patologia.(6)

O papel dos fatores genéticos na patogénese da NAFLD é corroborado por estudos em amplas coortes multiétnicas que demonstram que a prevalência desta patologia é distinta entre diferentes grupos étnicos, que a progressão da doença para formas mais avançadas não ocorre em todos os casos e que existe um significativo componente de hereditariedade na NAFLD. (2, 13, 15)

Existem diversas variantes genéticas que se podem associar a NAFLD pediátrica, mas as que conferem um risco marcadamente aumentado de patologia ocorrem nos genes *patatin-like phospholipase domain-containing protein 3* (PNPLA3), *transmembrane 6 superfamily member 2* (TM6SF2) e *glucokinase regulator* (GCKR).(13) Informação sobre estes encontra-se expressa na tabela 1.

Tabela 1- Genes e suas variantes associados ao desenvolvimento da NAFLD Pediátrica

Baseado em: (13)

Abreviaturas- GCKR: glucokinase regulator; GCKRP: glucokinase regulatory protein; LDN: lipogénese de novo; malonil-CoA: malonil coenzima A; MRI: magnetic resonance imaging; NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease; NASH: Non-alcoholic steatohepatitis; PNPLA3: patatin-like phospholipase domain-containing protein 3; SNP: single nucleotide polymorphism; TM6SF2: transmembrane 6 superfamily member 2; VLDL-c: colesterol lipoproteína de densidade muito baixa.

PNPLA3	<p>Gene mais bem documentado de entre os fatores genéticos implicados na NAFLD pediátrica. Codifica a adiponutrina, enzima envolvida no metabolismo lipídico. (6, 19, 29)</p> <p>O polimorfismo de nucleótido único (SNP) no codão 148, com substituição de isoleucina pela metionina (I148M), favorece esteatose por aumento de LDN.(6, 30)</p> <p>PNPLA3 I148M é a principal variante genética associada a predisposição aumentada para NASH e fibrose hepática progressiva, em adultos e crianças. (31)</p> <p>PNPLA3 I148M, mais frequente em crianças hispânicas e menos em afro-americanas, tem um efeito sinérgico com a obesidade, apesar de não exercer um forte efeito sobre os restantes componentes da síndrome metabólica.(6, 13, 29) A adiposidade visceral potencia o efeito deste polimorfismo sobre o dano hepático, pelo que a perda ponderal atenua o seu impacto. (8, 29)</p>
TM6SF2	<p>Gene que codifica TM6SF2, proteína envolvida na secreção de VLDL-c.(13)</p> <p>O SNP no codão 167, com substituição de glutamato por lisina (E167K) associa-se a perda de função de TM6SF2, associa-se a menor secreção de VLDL.(2, 13, 15)</p> <p>A variante TM6SF2 E167K, apesar de associada a menores níveis de lípidos circulantes e menor risco de enfarte agudo do miocárdio, confere maior predisposição a esteatose, inflamação e fibrose hepáticas.(2, 13, 32)</p> <p>Num estudo por Grandone et al., a presença desta variante alélica em crianças obesas associou-se ao aumento de esteatose hepática à MRI.(13)</p>
GCKR	<p>Gene que codifica GCKRP, proteína que inibe a atividade da glicocinase (responsável pelo armazenamento hepático e disposição de glicose).(8, 29)</p> <p>O SNP no codão 446 em que ocorre substituição de prolina pela leucina (P446L), interfere com a capacidade de GCKR regular negativamente a glicocinase. Desta forma, a captação constante de glicose no fígado com posterior aumento da produção de malonil co-A, favorece, através da LDN, esteatose hepática.(6, 13, 29, 32) Esta variante é mais prevalente na população hispânica.(6, 29)</p>

4.2.5 Hormonas sexuais

Em Pediatria, a NAFLD é predominante no sexo masculino, apresentando-se tipicamente durante a puberdade. Esta diferença entre sexos pode correlacionar-se com alterações nas hormonas sexuais durante este período.(13)

Evidência sugere que os estrogénios têm um papel protetor, uma vez que após a menopausa se verifica um aumento na prevalência de NAFLD.(2) Num estudo coorte multicêntrico pediátrico, verificou-se que baixos níveis de estrogénios circulantes se associaram a progressão histológica de NAFLD em ambos os sexos, e que maiores concentrações desta hormona se associaram a menor inflamação portal em crianças do sexo feminino com NAFLD.(13, 17)

Em relação à testosterona, estudos pediátricos verificaram que níveis mais elevados, no sexo masculino, foram associados a menor gravidade da patologia, enquanto, no sexo feminino, se associaram a progressão para esteatose e fibrose hepáticas.(13)

4.2.6 Regime dietético

Dietas hipercalóricas ricas em gordura e/ou frutose podem favorecer a acumulação hepática e a deposição visceral de gordura, aumentando o risco de síndrome metabólica.(18)

O consumo de glícidos tem aumentado ao longo das últimas décadas e evidência sugere que dietas ricas em açúcares aumentam o risco de NAFLD e NASH.(8)

A frutose parece ter, face à glicose, maior correlação com NAFLD.(8) Metabolizada quase inteiramente pelo fígado, de modo insulino-independente, promove LDN hepática e suprime a oxidação dos ácidos gordos neste órgão. (4, 8, 13, 19, 33)

O consumo crónico de frutose leva a resistência à leptina, favorecendo obesidade.(8, 33) Também pode induzir alterações na microbiota, com aumento do fluxo portal de endotoxinas e favorecimento de inflamação hepática.(2, 4, 6)

Quanto ao aporte lipídico, sabe-se que os ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa (LCPUFA) podem estar implicados na NAFLD. (33)

O LCPUFA ω -6 AA (ácido araquidónico) está envolvido na produção de eicosanoides proinamatórios, enquanto os derivados dos LCPUFA ω -3 EPA (ácido eicosapentaenóico) e DHA (ácido docosahexaenóico) são anti-inflamatórios. Os ácidos gordos ω -3 podem ter um papel protetor, ao favorecerem a oxidação dos ácidos gordos, a redução da LDN, a modulação da microbiota e a redução da endotoxemia.(33)

As dietas ocidentais associadas à obesidade apresentam um rácio ω -6/ ω -3 entre 15/1 e 20/1, apesar de o desejável ser 1/1 a 4/1.(33) Baixos níveis de LCPUFA ω -3 e um rácio ω -6/ ω -3 elevado têm sido associados a NAFLD.(34)

4.2.7 Obesidade

A obesidade infantil é um fator de risco major para NAFLD pediátrica, constituindo um importante problema de saúde pública.(8, 12, 19)

O tecido adiposo não é somente um reservatório de energia, sendo também um órgão endócrino metabolicamente ativo.(12) O potencial de expansibilidade do tecido adiposo é fundamental para a manutenção da homeostase lipídica. Porém, quando esse processo falha, como acontece na obesidade, os adipócitos adquirem um perfil proinflamatório de baixo grau associado a autofagia, e ocorre supressão da produção de adiponectina, enquanto a de outras adipocinas é favorecida.(4, 19)

Nos adipócitos hipertrofiados e hiperplásicos, principalmente no tecido adiposo visceral, a produção de citocinas e adipocinas resulta na ativação de cascatas de sinalização que induzem insulinoresistência. Conseqüentemente, ocorre uma elevada taxa de lipólise, com fluxo aumentado de ácidos gordos livres para o fígado e geração de stress oxidativo nos hepatócitos.(30)

O estado crônico de inflamação subclínica existente na obesidade favorece a progressão de NAFLD, tendo sido verificado que a sua gravidade se correlaciona com a histologia na NASH.(19, 30)

É plausível admitir que a obesidade abdominal tenha, face à generalizada, maior influência na indução de dano hepático, de acordo com um estudo realizado por Manco et al., numa coorte de 197 crianças obesas com NAFLD. Neste, foi observada correlação entre obesidade abdominal, ao invés do IMC, e presença de fibrose.(12)

4.2.8 Stress oxidativo e Lipotoxicidade

O stress oxidativo constitui um fator necessário para o desenvolvimento e progressão de NAFLD. (30)

Na NAFLD, o influxo excessivo de ácidos gordos livres para o fígado favorece aumento adaptativo da β -oxidação mitocondrial nos hepatócitos, com aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), promovendo disfunção mitocondrial. (4, 20) As ERO, ao atuarem sobre os ácidos gordos polinsaturados nos fosfolípidos da membrana mitocondrial, favorecem a peroxidação lipídica, com geração de produtos lipotóxicos que agravam a disfunção mitocondrial e o dano celular.(14, 20, 22, 30) A disfunção mitocondrial resulta, ao longo do tempo, em prejuízo da β -oxidação, com inflamação hepática e progressão da patologia.(35)

O stress oxidativo secundário à lipotoxicidade também induz stress no retículo endoplasmático, com indução da *unfolded protein response* (UPR) e ativação de vias

apoptóticas nos hepatócitos, eventos essenciais na progressão para NASH e doença avançada. (20, 30)

4.2.9 Insulinorresistência

A insulinorresistência constitui um dos elementos-chave no desenvolvimento de NAFLD, uma vez que favorece a ocorrência de lipólise nos adipócitos, com consequente aumento do fluxo de ácidos gordos livres para o fígado. Neste órgão, estimula a LDN e inibe a β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos. Através destes mecanismos, promove acumulação hepática de gordura, lipotoxicidade e stress oxidativo. (8, 12, 19)

4.3. Apresentação clínica

A NAFLD é frequentemente assintomática na população pediátrica, sendo o diagnóstico geralmente incidental, através de elevações nas enzimas hepáticas ou da evidência ecográfica de esteatose, aquando do rastreio de rotina realizado em crianças obesas ou da avaliação de outras patologias. (1)

As manifestações clínicas de NAFLD incluem dor abdominal não específica no quadrante superior direito, fadiga e irritabilidade. O exame objetivo pode evidenciar acantose nigricans, hepatomegalia e, raramente, esplenomegalia. (1, 2, 4)

A clínica da NAFLD pediátrica não se restringe ao fígado, havendo igualmente manifestações sistémicas, das quais são exemplos a diabetes mellitus tipo II (DMII), a hipertensão arterial (HTA), a doença cardiovascular (DCV), a síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS), o défice de vitamina D e a osteopenia. (1)

Relativamente à intolerância à glicose, esta é mais comum nas crianças com NAFLD, estando a prevalência da prediabetes compreendida entre 20-23% e a de DMII entre 0.8-6.5%. (13) Sabe-se também que a DMII constitui um forte fator de risco para a progressão patológica rumo a NASH e fibrose avançada. (1, 13)

Outra complicação extra-hepática que se pode observar na população pediátrica, e para a qual a NAFLD constitui um significativo fator de risco, é a DCV. (36) Tem sido demonstrada associação entre NAFLD e marcadores de aterosclerose subclínica, dos quais são exemplos a dislipidemia, a espessura íntima-média carotídea e a rigidez arterial. (36)

Relativamente à dislipidemia, num estudo em crianças com NAFLD, o NAFLD Activity Score (NAS) e o NAFLD Fibrosis Score (NFS) correlacionaram-se com os rácios TG/HDL-c e LDL-c/HDL-c, tendo crianças com NASH maiores rácios face a crianças com esteatose simples ou doença *borderline*. (36) Num outro estudo pediátrico, dois terços das

crianças com NAFLD demonstraram elevações nos níveis de LDL ou TG que exigiam tratamento farmacológico.(13)

Quanto à espessura íntima-média carotídea, em alguns estudos, crianças com NAFLD verificaram espessura aumentada relativamente aos controlos.(1, 36) Porém, os resultados contraditórios entre os vários estudos tornam a associação entre este marcador de aterosclerose e a NAFLD pediátrica incerta.(1, 10)

Relativamente à rigidez arterial, num estudo em que foram comparados parâmetros de rigidez arterial das carótidas entre crianças obesas e controlos saudáveis, a rigidez foi superior nas primeiras e houve correlação entre parâmetros de rigidez arterial e presença de fígado gordo.(36)

A NAFLD também favorece DCV através de alterações cardíacas estruturais e funcionais, como a hipertrofia ventricular esquerda e a disfunção diastólica, observadas em crianças obesas com NAFLD.(1)

Outra comorbilidade muito frequente na população pediátrica com NAFLD é a SAOS, cuja incidência abrange os 60%. A SAOS favorece a progressão da patologia rumo a NASH e fibrose através da indução de stress oxidativo sobre o fígado.(1)

Relativamente ao défice de vitamina D, estudos pediátricos relataram uma elevada prevalência deste em crianças com NAFLD, mas enquanto uns demonstram que o défice é tanto maior quanto maior a gravidade histológica, outros falharam em demonstrar essa correlação, pelo que o seu papel na NAFLD pediátrica é incerto.(10)

Outra potencial complicação sistémica é a osteopenia, com conseqüente risco de fraturas. Num estudo em que foi avaliada a DMO em crianças obesas com NAFLD, verificou-se que esta foi inferior face a crianças obesas sem patologia e que, na NASH, os valores de Z-score foram menores comparativamente a esteatose isolada. Todavia, a correlação entre NAFLD e osteopenia ou osteoporose na população pediátrica ainda não está bem definida.(1, 10)

4.4 Diagnóstico

Na avaliação de um paciente pediátrico com suspeita de NAFLD, devem ser avaliadas e excluídas patologias alternativas para a elevação crónica das enzimas hepáticas e/ou para a esteatose hepática, assim como investigadas eventuais patologias hepáticas crónicas coexistentes.(3)

A exclusão de causas secundárias para a esteatose hepática é clinicamente relevante, uma vez que, para muitas, existem opções terapêuticas específicas.(37)

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

Na população pediátrica, devem ser especialmente considerados os distúrbios metabólicos hereditários, que podem mimetizar ou coexistir com NAFLD, sobretudo em crianças muito jovens.(37-39) As infecções víricas, a hepatite autoimune, o hipotireoidismo, a doença celíaca e os fármacos hepatotóxicos são outras causas a excluir e, particularmente nas crianças muito magras, a lipodistrofia deve ser avaliada.(11, 37)

A suspeita de uma etiologia alternativa para a esteatose hepática ocorre na presença de infiltração precoce de gordura hepática (antes dos 5 anos de idade), ausência de fatores de risco para NAFLD e presença de fenótipos clínicos de insuficiência hepática aguda, colestase neonatal, organomegalia e atraso psicomotor. Consoante estes distintos modos de apresentação clínica, podem-se considerar diagnósticos diferenciais para a esteatose hepática.(38)

A Tabela 2 apresenta os dados clínicos úteis para o diagnóstico diferencial da esteatose hepática em idade pediátrica.

Tabela 2 – Dados clínicos úteis para o diagnóstico diferencial da esteatose hepática em idade pediátrica

Baseado em: (38)

Abreviaturas: IFALD: Intestinal Failure Associated Liver Disease

Apresentação clínica	Patologias a considerar
Insuficiência hepática aguda	<ul style="list-style-type: none">• Hepatopatias mitocondriais• Doenças do metabolismo dos ácidos gordos• Doenças do ciclo da ureia• Doenças do metabolismo dos hidratos de carbono• Doenças da função do retículo endoplasmático
Colestase neonatal	<ul style="list-style-type: none">• Tirosinemia tipo 1• Doença Niemann-Pick tipo C• Fibrose quística• Deficiência de α1-antitripsina• Defeitos na síntese de ácidos biliares• Deficiência de citrina• IFALD
Organomegalia	<ul style="list-style-type: none">• Doenças do armazenamento de glicogénio• Síndrome de Mauriac
Atraso do desenvolvimento/ atraso psicomotor	<ul style="list-style-type: none">• Doenças do metabolismo das proteínas• Doenças miopáticas• Hipotireoidismo• Doença celíaca• Doença Inflamatória Intestinal• Doença de lipase ácida lisossomal (Doença de Wolman)
Criança assintomática	<ul style="list-style-type: none">• NAFLD• Doença de Wilson• Recuperação após sépsis• Hepatite viral• Fármacos (corticosteroides, valproato de sódio, aspirina, tetraciclina, amiodarona, antirretrovirais)• Shunt porto-sistémico

O diagnóstico de NAFLD pediátrica também é fundamentado na combinação entre parâmetros laboratoriais e métodos de imagem. Em caso de incerteza, é considerada a biópsia hepática, o atual *gold-standard* no diagnóstico deste espectro de patologias. Todavia, esta constitui um método invasivo, verificando-se um interesse crescente no desenvolvimento de técnicas não invasivas para o diagnóstico de NAFLD, monitorização da progressão da patologia ou da resposta à terapêutica.(40, 41)

4.4.1 Diagnóstico não invasivo de NAFLD

4.4.1.1 Testes laboratoriais:

- Avaliação de esteatose hepática

Em Pediatria, o teste sérico mais utilizado na detecção de esteatose é a medição de alanina transferase (ALT). Todavia, a precisão diagnóstica e o ponto-de-corte óptimo de ALT para a prática clínica ainda não foram definidos, não sendo possível uma interpretação precisa deste parâmetro.(42)

A NASPGHAN recomenda a medição dos níveis séricos de ALT como 1^a linha no rastreio de crianças com suspeita de NAFLD, mas esta ferramenta pode, isoladamente, subestimar a extensão do dano hepático, uma vez que valores reduzidos de ALT não excluem as anormalidades histológicas presentes na NAFLD.(3, 5, 11, 42) Estudos em crianças indicam que ALT apresenta sensibilidade reduzida para avaliar a presença de NASH e fibrose.(16, 42)

Outros biomarcadores que se associaram, em estudos, à esteatose hepática, incluem o *fibroblast growth factor 21* (FGF-21), adipocinas (adiponectina e quequerina), e a osteocalcina. Todavia, a evidência é escassa, requerendo mais investigação para determinação da sua aplicabilidade clínica.(12, 16, 42)

- Avaliação de NASH

A importância da detecção precoce de NASH tem fomentado a pesquisa de biomarcadores de dano hepático associados a esta.(16)

Um amplo corpo de evidência demonstra a utilidade da medição dos níveis plasmáticos dos fragmentos de citoqueratina 18 (CK-18), marcadores de apoptose dos hepatócitos, no diagnóstico de NASH.(15)

Fitzpatrick et al. demonstraram que crianças com NAFLD apresentaram níveis acentuadamente elevados de fragmentos de CK-18 face aos controlos, e os níveis correlacionaram-se com a gravidade da patologia, sendo superiores na NASH estabelecida

comparativamente a esteatose hepática.(15) Por sua vez, Feldstein et al. referiram o benefício da utilização dos níveis séricos de CK-18 na previsão de NASH como excelente, com *Area Under the Receiver Operating Characteristics* (AUROC) de 0,933.(16, 43)

Apesar de alguns estudos encorajadores, os resultados conflituosos acerca da utilidade deste biomarcador, sobre-expresso noutras patologias hepáticas, indiciam a necessidade de estudos de validação mais amplos para determinação da sua aplicabilidade clínica.(15, 16)

As citocinas são outro exemplo de biomarcadores de inflamação hepática, tendo sido observados reduzidos níveis de adiponectina e elevados níveis de TNF- α e de leptina em pacientes pediátricos com NASH.(2) Outra citocina correlacionada com NASH em estudos é o inibidor do ativador de plasminogénio tipo 1 (PAI-1), tendo sido observados níveis de PAI-1 total e ativado acentuadamente aumentados em crianças com NASH. Igualmente, num estudo em 44 crianças, PAI-1 teve correlação positiva com a gravidade da esteatose, grau de inflamação lobular, degeneração balonizante e fibrose.(16) Relativamente à citocina Catepsina D, um estudo pediátrico verificou que o decréscimo dos seus níveis apresentou forte correlação com NASH (AUROC= 0,94).(16)

Outros biomarcadores em estudo incluem *soluble Fas* (sFas), *soluble Fas ligand* (sFasL) e FGF-21. Alkhoury et al. observaram níveis acentuadamente aumentados de sFas e sFasL em crianças com evidência de NASH e, relativamente a FGF-21, dados em coortes adultas e pediátricas mostraram que níveis aumentados desta hepatocina se correlacionaram com NASH.(16)

Porém, é necessária mais investigação acerca destes biomarcadores em contexto pediátrico antes da sua aplicação clínica.(16)

- Avaliação de fibrose hepática

Diversos biomarcadores séricos que podem prever a presença de fibrose em crianças têm sido estudados. Moléculas envolvidas na remodelação da matriz extracelular durante a fibrogénese, como o ácido hialurónico (AH), *procollagen III N-terminal peptide* (PIIINP), *precursor C3-protein* (PRO-C3) e *tissue inhibitor of metalloproteinase 1* (TIMP-1) têm sido associadas a NASH e/ou fibrose nos adultos, mas carecem de precisão diagnóstica em contexto pediátrico.(16)

Destas, somente o AH tem mostrado precisão satisfatória na deteção de fibrose em crianças, mas são necessários mais estudos para validação.(42) Nobili et al. verificaram que os níveis séricos de AH constituem bons preditores de fibrose em crianças com NAFLD, com valores de AH ≥ 1200 ng/ml a tornarem provável a presença de fibrose (F1) e valores ≥ 2100 ng/ml a tornarem provável fibrose significativa ($\geq F2$). Porém, um estudo

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

por Fitzpatrick et al. relatou o contrário, permanecendo controversa a validade deste biomarcador.(16, 43)

Uma vez que nenhum dos biomarcadores mencionados alcançou, individualmente, aplicação clínica rotineira na previsão de fibrose, foram desenvolvidos scores de previsão de fibrose hepática.(16)

Os scores de previsão de fibrose hepática fundamentados em testes séricos simples incluem o *rácio AST/ALT*, *AST/plaquet ratio index (APRI)*, *NAFLD fibrosis score (NFS)* e *FIB-4 index*. Desenvolvidos para adultos, detetam com precisão a presença de fibrose, sobretudo se significativa. Porém, a sua precisão na deteção de fibrose significativa é reduzida em crianças.(16, 42)

Assim, foram desenvolvidos, em contexto pediátrico, os scores *Pediatric NAFLD Fibrosis Index (PNFI)* e *Pediatric NAFLD Fibrosis Score (PNFS)*, mas estes também mostraram precisão reduzida na deteção de fibrose hepática, não sendo utilizados na prática clínica.(42)

Existem também scores de previsão de fibrose complexos, que avaliam a fibrose hepática com base em biomarcadores específicos que não contemplam os parâmetros bioquímicos no sangue. Um exemplo é o *Enhanced Liver Fibrosis (ELF) Test*.(40)

A tabela 3 expõe informação relativamente aos diversos sistemas de *scoring* de fibrose hepática.

Tabela 3 – Scores de previsão de fibrose hepática estudados em Pediatria

Baseado em: (16, 40, 41, 43-47)

Abreviaturas: AH: ácido hialurónico; ALT: alanina aminotransferase; APRI: AST/plaquet ratio index; AST: aspartato aminotransferase, AUC: Area Under the Curve, AUROC: Area Under the Receiver Operating Characteristic; ELF Test: Enhanced Liver Fibrosis Test; FA: fosfatase alcalina; FIB-4 Index: Fibrosis-4 Index; GGT: gama glutamil transferase; NAFLD: Non-alcoholic Fatty Liver Disease; NFS: NAFLD Fibrosis Score; PIIINP: procollagen III N-terminal peptide; PNFI: Pediatric NAFLD Fibrosis Index; PNFS: Pediatric NAFLD Fibrosis Score; TIMP-1: tissue inhibitor of metalloproteinase 1.

Score de Previsão de Fibrose Hepática	Parâmetros do Score	Precisão do Score	Estudos relativos ao Score
Rácio AST/ALT	AST, ALT	Precisão reduzida na deteção de fibrose em diversos estudos.(16, 41)	Numa coorte de 77 pacientes pediátricos com NAFLD, teve desempenho insatisfatório na previsão de fibrose hepática (AUC=0,53), e os valores do rácio foram semelhantes entre fibrose ligeira e significativa.(16, 41, 44) Numa coorte de 146 pacientes pediátricos, demonstrou sensibilidade inadequada na deteção precisa da presença de fibrose ou da sua gravidade, demonstrado pelo valor AUC de 0,51. Os valores do rácio foram semelhantes para a ausência de fibrose (0,61 ± 0,05) e para a presença de fibrose (0,58 ±

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

			0,02), com $p= 0,781$. Os valores do rácio também foram semelhantes entre fibrose ligeira (F0-F1) e fibrose significativa (F2-F4): $0,59 \pm 0,03$ e $0,56 \pm 0,03$, respetivamente, com $p= 0,826$.(45)
APRI	AST, contagem plaquetária		Numa coorte de 92 crianças com NAFLD, apenas APRI apresentou boa performance na previsão de fibrose hepática, com resultados promissores: AUROC de 0,800 para deteção de qualquer fibrose ($\geq F1$). Porém, a sua precisão foi insatisfatória para deteção de fibrose significativa (F2-F3) e avançada (F3), com valores AUROC de 0,666 e 0,628, respetivamente.(40)
NFS	Idade, IMC, contagem plaquetária, albumina, AST/ALT rácio	Não é preciso na previsão do estadio de fibrose em crianças.(16)	Numa coorte de 77 pacientes pediátricos com NAFLD confirmada por biópsia, NFS não foi preciso na averiguação do estadio de fibrose hepática, dado que, entre os grupos de fibrose ligeira (F0-F1) e fibrose significativa (F2-F3), não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,532$). (16, 44)
FIB-4 Index	Idade, AST, ALT, contagem plaquetária		<p>Numa coorte de 77 pacientes pediátricos com NAFLD, FIB-4 index revelou diferenças estatisticamente significativas entre fibrose ligeira (F0-F1) e fibrose significativa (F2-F3) ($p= 0,010$). Neste estudo, foi o marcador mais preciso para a fibrose, com AUC de 0,81.(41, 44)</p> <p>Numa coorte de 242 crianças com NAFLD, FIB-4 index foi superior em crianças com fibrose avançada (F3-F4) face a crianças sem fibrose avançada (F0-F2): $0,26 \pm 0,15$ e $0,32 \pm 0,14$, respetivamente ($p=0,037$). Porém, não foi o marcador mais preciso para a fibrose avançada, com AUROC de 0,64 face a AUROC de 0,74 por PNFS.(46)</p>
ELF Test	AH, PIIINP, TIMP-1	Elevada precisão para fibrose significativa e avançada, mas são necessários mais estudos para validação.(16)	Num estudo por Nobili et al., e de modo semelhante ao verificado nos adultos, este score mostrou precisão excelente na previsão de qualquer estadio de fibrose (AUROC 0,92), de fibrose significativa (AUROC 0,98) e de fibrose avançada (AUROC 0,99).(16, 40, 43, 44)
PNFI	Idade, perímetro abdominal, níveis de triglicéridos		Num estudo pediátrico, PNFI obteve um valor AUROC de 0,85 na previsão de qualquer estadio de fibrose, e um $PNFI \geq 9$ correspondeu a 98,5% de precisão na presença de fibrose, permitindo afirmar a mesma, e um $PNFI < 3$ permitiu excluir a presença de fibrose. Contudo, tem como limitação o facto de não conseguir inferir ou excluir fibrose em crianças com valores entre os 2 pontos-de-corte referidos.(16, 41)

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

			Numa coorte de 77 pacientes pediátricos, PNFI teve mau desempenho na previsão de fibrose significativa ($F \geq 2$), com AUROC de 0.41, e não diferiu entre fibrose significativa e a ausência desta ($7,61 \pm 2,08$ e $7,71 \pm 2,79$, respetivamente; $p=0,314$)(43, 44, 47)
PNFI + ELF Test		Precisão excelente na previsão de fibrose hepática.(41)	Numa coorte de 111 crianças com NAFLD, a combinação de PNFI com ELF Test teve um desempenho superior na previsão de fibrose face a cada um dos dois scores isoladamente, com AUROC de 0,944 comparativamente a 0.761 por PNFI e a 0,924 por ELF Test. Possibilitou a previsão de presença ou ausência de fibrose em 86,4% da amostra.(16, 43)
PNFS	ALT, FA, GGT, contagem plaquetária	Preciso na previsão de fibrose avançada, mas requer validação.(16, 43)	Num estudo de Alkhouri et al., numa coorte de 242 crianças com NAFLD, PNFS foi mais preciso do que APRI, NFS e FIB-4 index na previsão de fibrose avançada ($F \geq 3$), com AUROC=0,74. (46)

4.4.1.2 Técnicas de Imagiologia

- Avaliação de esteatose hepática

Ecografia abdominal

A ecografia abdominal é a modalidade imagiológica mais utilizada na prática clínica para averiguação de esteatose hepática, definida pela ecogenicidade aumentada do parênquima hepático comparativamente ao rim direito ou ao baço. A tabela 4 expõe o Escore Ultrassonográfico de Esteatose, frequentemente aplicado.(16, 42)

Todavia, esta técnica não se tem revelado promissora na população pediátrica, apresentando sensibilidade e especificade reduzidas na deteção de esteatose, sobretudo na presença de tecido adiposo excessivo ou quando a infiltração gordurosa hepática é inferior a 30%.(16, 41, 42)

Desta forma, a NASPGHAN preconiza que uma ecografia normal não exclui patologia e que, por si só, não constitui uma ferramenta adequada no diagnóstico e seguimento de NAFLD.(16)

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

Tabela 4 – Escore Ultrassonográfico de Esteatose (adaptado de (42))

Classificação (escores)	Descrição do escore
0 (normal)	Ecogenicidade do parênquima hepático normal. Visualização normal do diafragma e vasos sanguíneos intrahepáticos.
1 (esteatose ligeira)	Ligeiro aumento da ecogenicidade do parênquima hepático. Visualização normal do diafragma e vasos sanguíneos intrahepáticos.
2 (esteatose moderada)	Aumento acentuado da ecogenicidade do parênquima hepático. Decréscimo ligeiro na visualização do diafragma e dos vasos sanguíneos intrahepáticos.
3 (esteatose grave)	Ecogenicidade do parênquima hepático gravemente aumentada. Decréscimo acentuado ou ausência de visualização do diafragma e vasos sanguíneos intrahepáticos e da porção posterior do lobo hepático direito.

Parâmetro de atenuação controlada (CAP)

O CAP é uma técnica recente, baseada na ecografia, que, em contexto pediátrico, tem demonstrado sensibilidade e especificidade satisfatórias na averiguação de esteatose hepática.(16, 42)

Um estudo por Ferraioli G. et al. demonstrou que CAP foi superior à ecografia na deteção de esteatose em crianças.(16) Outro estudo, que comparou CAP com a biópsia hepática, concluiu que CAP diferenciou a gravidade da esteatose e que, com um cutoff de 255 dB/m, a técnica teve sensibilidade de 87% e especificidade de 83% na deteção de esteatose S1 (>5% de conteúdo lipídico nos hepatócitos).(40)

Porém, são necessários mais estudos para avaliar a utilidade desta técnica.(40)

Tomografia computadorizada (TC)

A tomografia computadorizada permite a avaliação quantitativa de esteatose hepática, mas a sua utilização encontra-se limitada pela exposição à radiação, não sendo recomendada enquanto avaliação inicial pela NASPGHAN.(41, 42)

Ressonância magnética (MRI) e Técnicas fundamentadas na MRI

A MRI clássica e as técnicas fundamentadas na MRI são as técnicas mais precisas na avaliação de esteatose em pacientes com NAFLD.(16, 42) Porém, dispendiosas para a prática clínica, têm aplicação em contexto de pesquisa.(42)

Uma nova variante da MRI clássica, a *MRI-proton density fat fraction* (MRI-PDFF), apresenta uma precisão satisfatória na detecção de esteatose, com uma sensibilidade de 74-100% e especificidade de 88-97%. Permite o mapeamento de todo o fígado, medindo com minúcia o grau de esteatose mesmo no caso de heterogeneidade hepática.(13, 42) Recentemente validada como um método preciso na avaliação de esteatose, é capaz de diferenciar entre o grau 1 versus graus 2 e 3, e entre os graus 0 e 1, pelo que constitui uma potencial candidata para substituir a biópsia hepática.(41)

Outra vantagem da MRI-PDFF é a necessidade de uma percentagem de infiltração gordurosa hepática substancialmente menor à da ecografia, para estabelecer o diagnóstico de esteatose.(16)

A Espectroscopia por MRI (MRS), embora também precisa na avaliação de esteatose em baixo grau (gordura hepática em <30% dos hepatócitos), mede somente regiões de interesse.(13, 42)

- Avaliação de fibrose hepática

A radiologia tem emergido como a modalidade mais promissora na detecção não invasiva e na classificação de fibrose hepática. A maioria das técnicas radiológicas são baseadas na elastografia, a qual avalia a rigidez hepática ao medir a velocidade de propagação de uma onda mecânica ou de ultrassom ao longo do fígado. Uma rigidez aumentada correlaciona-se com um maior grau de fibrose.(42)

Elastografia transitória (TE)

A elastografia transitória (TE) é a técnica mais utilizada na prática clínica para a medição não invasiva de fibrose, e a sua celeridade na medição da rigidez hepática permite a obtenção de resultados em tempo real.(42, 47)

Em estudos em crianças com NAFLD confirmada por biópsia, a TE mostrou uma excelente precisão na previsão da presença de qualquer grau de fibrose.(42)

Contudo, outros estudos concluem que é mais útil na previsão de fibrose avançada (F3).(12, 16) São, assim, necessários mais estudos para o estabelecimento de valores pontos-de-corte específicos que correspondam aos diferentes estadios de fibrose.(47)

Comparativamente à biópsia hepática, é menos propensa a erros de amostra pela maior área hepática examinada.(42) Porém, à semelhança da ecografia abdominal, a precisão da TE é diminuída pela obesidade.(16)

Elastografia por ecografia

De entre as técnicas de elastografia por ecografia, exemplificam-se a *Acoustic Radiation Impulse Imaging* (ARFI) e a *Shear Wave Elastography* (SWE).(40)

Relativamente a SWE, poucos estudos pediátricos estão disponíveis. Num estudo por Tutar et al., que avaliaram a SWE em 50 crianças saudáveis e a compararam com 76 crianças com patologia hepática crónica (incluindo 13 crianças com NASH), concluiu-se que SWE teve sensibilidade e especificidade muito boas (91,5% e 94%) na deteção de fibrose hepática.(47)

No que respeita a ARFI, múltiplos estudos em adultos mostram que se correlaciona bem com o grau de fibrose hepática.(47)

Num estudo por Hanquinet et al., que comparou a ARFI entre 35 crianças com doença hepática crónica e 103 controlos saudáveis, esta correlacionou-se com o grau de fibrose com um cut-off de 2m/s, tendo sensibilidade de 100% na deteção de fibrose avançada ($F > 2$). Por sua vez, Noruegas et al. descobriram que, para valores cut-off de 1,31, 1,39 e 2,25 m/s, ARFI previu o grau de fibrose hepática com um AUROC muito bom (0,834, 0,818, 0,983 para os graus de fibrose $\geq F1$, $\geq F2$ e $F4$, respetivamente). Em ambos os estudos, a performance de ARFI foi mais fiável nos estadios de fibrose avançada do que na fibrose menos significativa.(43, 47)

Elastografia por Ressonância Magnética (MRE)

A MRE é um novo método promissor na avaliação de fibrose, estando validada por estudos em adultos que demonstraram sensibilidade e especificidade excelentes na deteção de qualquer grau de fibrose.(16, 47)

Num estudo em 90 crianças com NAFLD, teve precisão entre 87-90% na discriminação entre fibrose F2 e F3, mas os resultados não são superiores aos obtidos nos adultos.(16)

Tem como vantagens o facto de ser independente da deposição de gordura abdominal e de examinar a rigidez de todo o fígado. Contudo, o custo e a necessidade de

sedação em pacientes mais jovens constituem potenciais desvantagens, sendo utilizada em contexto de pesquisa.(42, 47)

4.4.2 Diagnóstico invasivo de NAFLD

Biópsia hepática

A biópsia hepática constitui o método definitivo de diagnóstico de NAFLD, avaliando o dano histológico associado a esta patologia. Permite a distinção entre esteatose simples e NASH, e a detecção da presença e do grau de fibrose. (11, 39)

Apesar destas vantagens, a obtenção de uma reduzida amostra hepática pode subestimar, ou pelo contrário, sobrevalorizar anormalidades histológicas, devido à natureza heterogênea da NAFLD no fígado.(39, 42) Para além disso, deve ser considerada somente em crianças que desta técnica beneficiem, uma vez que é invasiva e não está isenta de complicações.(16)

Os componentes histológicos envolvidos no diagnóstico e estadiamento de NAFLD constituem a esteatose, a degeneração balonizante, a inflamação e a fibrose hepáticas.(15)

A esteatose hepática, definida pela acumulação de lípidos neutros nas células do parênquima hepático, pode ser, em termos histopatológicos, macrovesicular ou microvesicular. Por sua vez, o padrão macrovesicular é caracterizado por um amplo vacúolo lipídico central que empurra o núcleo da célula rumo à periferia, enquanto no padrão microvesicular o núcleo permanece numa posição central, com os vacúolos em seu redor.(38, 41)

Estes estadios são reversíveis, dado que a remoção do agente causal conduz à restauração morfo-funcional da célula. Contudo, quando nos hepatócitos com esteatose macrovesicular, ocorre a destruição das membranas plasmáticas das células adjacentes, são formados quistos lipídicos, os quais constituem lesões irreversíveis.(41)

O reconhecimento do padrão de esteatose pode ser importante para a consideração de hipóteses de diagnóstico diferencial na faixa pediátrica. Enquanto há uma predominância de esteatose macrovesicular na NAFLD pediátrica (tal como na adulta), a observação de um padrão microvesicular em crianças é sugestivo de distúrbios metabólicos hereditários, os quais são predominantemente devidos a patologia mitocondrial.(38, 41)

A persistência dos fatores que induzem esteatose determina a evolução para NASH, a qual se caracteriza pelo dano nos hepatócitos, com degeneração balonizante, corpos de Mallory-Denk e/ou fibrose pericelular, podendo ou não estar associada com a esteatose, necrose e apoptose celular.(41) A degeneração balonizante, incomum em crianças e adolescentes, tem sido associada ao aumento da incidência de cirrose na idade adulta.(41,

48) Também o concentrado de células inflamatórias observado na NASH, que, nas crianças, se encontra sobretudo na área portal, constitui um marcador da gravidade da doença na idade adulta.(41)

A fibrose, marcadora de dano hepático crônico, inicia-se pela deposição de fibras de colagénio peri-sinusoidais ou peri-celulares na área centrilobular, difundindo-se centrifugamente para os lóbulos hepáticos. Nos estadios avançados, pode haver fibrose em ponte, com conexão entre veias centrais vizinhas ou entre as veias centrais e os tratos portais.(15, 41)

Em crianças e em adolescentes, dois padrões de NASH têm sido descritos(41):

- Padrão adulto típico (NASH tipo 1) é caracterizado pela presença de esteatose (sobretudo macrovesicular) com degeneração balonzante e/ou fibrose perisinusoidal (envolvimento da zona 3 lobular), com os tratos portais a serem relativamente poupados.(15, 48)
- Padrão pediátrico (NASH tipo 2) é caracterizado pela presença de esteatose com inflamação portal e/ou fibrose na ausência de degeneração balonzante e de fibrose perisinusoidal.(15, 48)

O padrão NASH tipo 2 é mais frequente em crianças mais jovens, rapazes obesos e de origem não caucasiana; já os adolescentes tendem a desenvolver características do padrão NASH tipo 1, o que poderá estar associado às mudanças hormonais ocorridas na puberdade.(41) Contudo, uma grande proporção de pacientes apresenta sobreposição de características de ambos os padrões.(48)

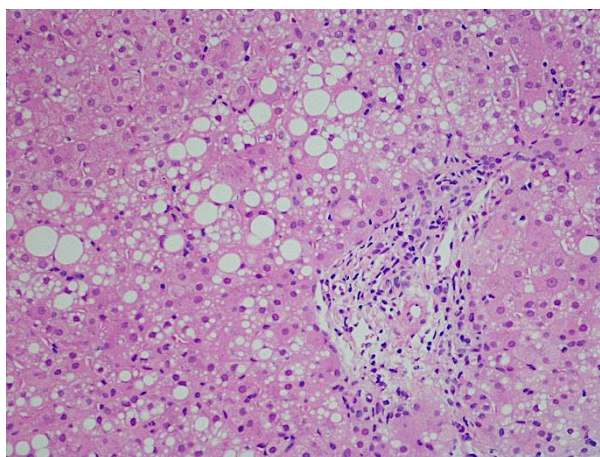


Figura 1 – Padrão esteatótico. Hematoxilina-eosina, magnificação 200x. Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, gentilmente cedida pelo Dr. Rui Caetano de Almeida.

4.5 Tratamento

A gestão da NAFLD pediátrica tem como objetivos a redução da carga de doença e a melhoria das repercussões a longo prazo, sendo eficaz quando ocorre redução no conteúdo lipídico nos hepatócitos, decréscimo da inflamação hepatocitária, ausência de fibrose e redução das aminotransferases até aos valores normais.(11)

O tratamento encontra-se subdividido em medidas não farmacológicas e farmacológicas, e pode contemplar ainda a cirurgia bariátrica.(11)

4.5.1 Medidas Não Farmacológicas: Modificação do Estilo de Vida

As intervenções relacionadas com o estilo de vida que visam a perda ponderal, como um regime dietético saudável e a atividade física, constituem a primeira linha no tratamento da NAFLD pediátrica. A sua implementação é crucial, uma vez que, num estadio precoce, a NAFLD é reversível.(2-4, 13, 19) É desconhecida a percentagem de perda ponderal necessária para a indução de melhoria da NAFLD em crianças, mas sabe-se que a redução do IMC se associa a melhoria das características histológicas.(3, 13, 15, 19, 49)

O aconselhamento dietético fundamenta-se na redução do aporte calórico, no aumento do conteúdo em fibras, e na redução do consumo de frutose (49). Também deve haver restrição do consumo de gorduras trans, em favor de ácidos gordos monoinsaturados, e deve ser alcançado um rácio adequado entre PUFA6/PUFA3.(15)

Num ensaio clínico randomizado (ECR) houve comparação, em adolescentes obesos com NAFLD, entre a dieta mediterrânica e uma dieta restrita em gorduras, durante 12 semanas. Em ambos os regimes dietéticos, foram verificados perda ponderal, diminuição da insulinoresistência e decréscimo significativo no grau de esteatose hepática avaliado por ecografia, sem diferenças significativas entre os grupos. No grupo sob dieta mediterrânica, o decréscimo nos níveis séricos de ALT e AST foi superior, e houve efeitos positivos sobre os marcadores de inflamação e de stress oxidativo. Estes achados foram alcançados sem necessidade de restrição calórica.(50)

Num ECR em adolescentes com NAFLD que comparou os efeitos de uma dieta restrita em hidratos de carbono face a uma dieta restrita em gordura, durante 8 semanas, foi observado que o grupo sujeito à primeira verificou maior redução no conteúdo de gordura hepática, e melhorias mais acentuadas na composição corporal e na insulinoresistência.(51)

Num outro ECR que averiguou a eficácia de uma dieta com reduzido teor de açúcares livres em 40 rapazes adolescentes com NAFLD durante 8 semanas, observou-se que o grupo de intervenção teve, face aos controlos, uma melhoria acentuada na esteatose hepática e nos níveis das enzimas hepáticas, assim como redução ponderal.(13, 52)

Os achados dos últimos 2 ECR sugerem que a restrição no consumo de glícidos pode ser uma abordagem eficaz na reversão do fígado gordo, o que está em consonância com estudos em adultos.(51)

No que concerne à atividade física, o ECR EFIGRO verificou que a primeira é, enquanto complemento do regime dietético, inequivocamente benéfica. Neste, foi avaliada a resposta inter-individual em crianças com excesso de peso ou obesidade após a integração num programa de estilo de vida, complementado ou não com atividade física, durante 22 semanas. O grupo de intervenção, alvo de exercício intensivo (3 sessões semanais de 90 minutos, com componentes aeróbica e de resistência), verificou maiores percentagens de resposta na redução das variáveis: conteúdo da gordura hepática, peso, IMC, índice de massa gorda (IMG), gordura abdominal, valor sérico de GGT e rácio AST/ALT. (53)

Relativamente às modalidades de exercício, tanto o aeróbico quanto o de resistência parecem ser igualmente benéficos na redução da gordura hepática, segundo um ECR efectuado em rapazes obesos com NAFLD.(3)

Porém, a heterogeneidade nos estudos não oferece evidência suficiente para recomendar um regime dietético ou de exercício em particular. (13) Igualmente, deve ser considerado que as medidas de estilo de vida são de difícil alcance nesta faixa etária, sendo os resultados a longo prazo frequentemente desapontantes.(13, 54)

4.5.2 Fármacos em experimentação para o tratamento de NAFLD em Pediatria

A utilização de medidas farmacológicas na população pediátrica é controversa, uma vez que nenhum fármaco ou suplemento disponível mostrou ser benéfico para a maioria dos pacientes com NAFLD. (2, 3)

Em seguida, são enumeradas as diferentes abordagens terapêuticas em estudo.

Sensibilizadores da insulina

A íntima correlação entre a insulinoresistência e NAFLD faz com que esta classe farmacológica constituía um alvo terapêutico promissor.(11, 49)

- Metformina

Aprovada no tratamento da diabetes em crianças e adolescentes, tem sido alvo de estudos para averiguar a sua eficácia no tratamento da NAFLD pediátrica.(11)

A metformina tem mostrado melhorar a esteatose hepática, mas vários estudos apresentam dados discordantes acerca da sua eficácia em diminuir os níveis de ALT ou em melhorar a histologia hepática. Enquanto num ensaio clínico realizado em 10 crianças obesas com NASH e níveis elevados de ALT, que procurou determinar a eficácia da administração

bidária de 500 mg de metformina durante 24 semanas, foi observada melhoria significativa nos níveis basais de ALT, com normalização dos mesmos em 40% da amostra, o ECR TONIC não alcançou conclusões semelhantes. Neste, foi comparado o efeito da administração bidária de 500 mg de metformina, durante 96 semanas, comparativamente ao placebo em pacientes pediátricos com NAFLD, verificando-se que a primeira não foi superior ao placebo na redução sustentada dos valores séricos de ALT e na melhoria da histologia hepática (do NAFLD Activity Score). (55)

Assim, a escassez de evidência para aprovação da metformina enquanto opção terapêutica específica na NAFLD pediátrica inviabiliza a sua recomendação pelas guidelines da NASPGHAN e da AASLD.(11, 49)

- Pioglitazona

Num ECR em que foram administrados 30 mg diários de pioglitazona em adultos com NASH, durante 96 semanas, houve redução nos níveis séricos das aminotransferases e da esteatose, da inflamação e da degeneração balonzante, e resolução de NASH. Todavia, este fármaco suscita dúvidas quanto ao seu perfil de segurança, não estando aprovado na população pediátrica.(11, 49, 55)

- Liraglutide

Num ECR em que foi comparado o efeito de injeções subcutâneas de liraglutide com o placebo em pacientes obesos com NASH, verificou-se resolução histológica de NASH. Porém, apesar de seguro e bem tolerado, é necessária mais evidência e o seu uso em crianças não é aceite, por poder ser usado somente por injeção.(49)

Antioxidantes

Uma vez que a disfunção mitocondrial e o dano provocado pelas espécies reativas de oxigênio são fatores implicados na patofisiologia de NAFLD, os antioxidantes constituem um potencial alvo terapêutico.(55)

- Vitamina E

No ECR TONIC, a administração diária de 800 IU de vitamina E em crianças com NAFLD, durante 96 semanas, associou-se, face ao placebo, a resolução significativamente superior de NASH por melhoria na degeneração balonzante hepatocelular e a maior melhoria no NAFLD Activity Score (NAS). Apesar de induzir melhoria clínica na NASH, a

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

vitamina E não se associou a maior decréscimo nos valores séricos de ALT nem a maior diminuição da fibrose, do grau de inflamação lobular e portal ou da esteatose.(33, 49)

Enquanto a AASLD recomenda a utilização de vitamina E em algumas crianças com NASH, após consideração dos riscos e benefícios, a NASPGHAN opõe-se devido à escassez de benefício comprovado na maioria dos pacientes.(3, 5)

Outros ensaios clínicos têm-se debruçado sobre o efeito combinado da vitamina E com outros agentes sobre a NAFLD pediátrica. A Tabela 5 apresenta estes estudos.

Tabela 5 - Efeito combinado da vitamina E com outros agentes sobre a NAFLD pediátrica

Fontes: (3, 49, 56, 57)

Abreviaturas: ECR: ensaio clínico randomizado; HXT: hidroxitirosol, NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease, ALT: alanina aminotransferase, DHA: ácido docosahexaenóico.

Combinação	Descrição de efeitos
Vitamina E + HXT	Num ECR que comparou a eficácia de uma mistura destes 2 antioxidantes (10 mg vitamina E + 7,5 mg HXT) face ao placebo, administrada durante 4 meses em crianças com NAFLD, verificou-se que a primeira se associou a melhoria nos parâmetros de stress oxidativo, insulinoresistência e de esteatose hepática. Porém, não foi possível averiguar o efeito individual de cada um dos antioxidantes, o que constitui uma limitação neste estudo.(56)
Vitamina E + Vitamina C	Num ensaio clínico que avaliou o efeito combinado das vitaminas E e C face ao placebo em crianças com NAFLD sob dieta hipocalórica, durante 1 ano, verificou-se que não houve diferenças significativas na normalização de ALT em ambos os grupos e que a melhoria na sensibilidade à insulina se atribuiu principalmente ao efeito da perda ponderal e do exercício. Assim, os 2 antioxidantes não foram superiores à intervenção isoladamente baseada no estilo de vida, não ficando elucidado se induzem benefício adicional.(3, 49)
Vitamina E + colina + DHA	Num ECR em crianças com NASH que comparou a eficácia de uma abordagem combinada de vitamina E, colina e DHA com o placebo, observou-se que a mistura se associou a decréscimo significativo da esteatose grave e a melhoria nos níveis séricos de ALT e da glicemia em jejum. Porém, apesar destes benefícios, não foi possível averiguar o efeito individual da vitamina E nestes parâmetros, o que constitui uma limitação do estudo.(49, 57)

- Bitartrato de Cisteamina

Num ECR em que foi avaliado o efeito do bitartrato de cisteamina de libertação prolongada em crianças com NAFLD durante 52 semanas, verificou-se que, face ao placebo, não houve diferença significativa na melhoria da histologia hepática, avaliada pela diminuição de NAS em dois ou mais pontos e pela ausência de piora da fibrose: 28% no grupo de intervenção versus 22% no grupo placebo. Apesar da melhoria na inflamação lobular no grupo sob cisteamina, o mesmo não se verificou quanto à esteatose e degeneração

balonizante dos hepatócitos. No grupo de intervenção, houve ainda melhoria acentuada nos níveis séricos das aminotransferases.(6, 49, 58)

No grupo de intervenção sob cisteamina, houve melhoria histológica significativa nas crianças com idade inferior a 13 anos, pelo que a cisteamina poderá ser mais útil em crianças do que em adolescentes. Porém, serão necessários mais estudos para o esclarecimento desta questão.(49, 58)

Ácido Ursodesoxicólico (UDCA)

Num ECR em que 31 crianças obesas com NAFLD foram divididas nos grupos «ausência de intervenção de estilo de vida», «administração de UDCA» e «intervenção de estilo de vida e UDCA», verificou-se que o grupo em que houve administração isolada de UDCA não teve decréscimo significativo nos níveis das aminotransferases ou diminuição da ecogenicidade hepática, mas que o grupo que teve ambas as abordagens verificou melhoria acentuada nos níveis de ALT e na ecografia hepática, assim como perda ponderal.(3, 49, 55)

Para além destes achados, UDCA não induziu benefícios histológicos em estudos em adultos, não constituindo uma opção terapêutica aprovada nestes nem na faixa pediátrica.(49)

Probióticos

A disbiose intestinal desempenha um papel fundamental no desenvolvimento e progressão de NAFLD, associando-se ao aumento da permeabilidade intestinal, sobrecrecimento bacteriano no intestino delgado e alterações na composição da microbiota. Assim, a modulação da microbiota pelos probióticos pode constituir uma possível abordagem para a obesidade e NAFLD.(55)

Num ECR em crianças obesas com NAFLD confirmada por biópsia foi comparado o efeito da administração de uma junção de 8 estirpes probióticas (VSL#3) com o do placebo. Após 4 meses de suplementação com VSL#3, observou-se melhoria acentuada da esteatose e da fibrose hepáticas avaliada por ecografia, redução significativa do IMC e aumento dos níveis circulantes de péptido semelhante a glucagon 1 (GLP-1) e de GLP-1 ativado comparativamente ao placebo.(49, 59)

Porém, os resultados relativamente aos efeitos de VSL#3 são contraditórios entre estudos. Num ECR em adolescentes hispânicos obesos, em que foram administradas 3 doses diárias de VSL#3 ou um equivalente de placebo por 16 semanas, o grupo de intervenção registou aumento do IMC e não houve mudanças quanto à esteatose e fibrose hepáticas. Todavia, a ausência de resultados pode dever-se a limitações do estudo, como a

sua amostra reduzida e o autorrelato do aporte dietético (com eventual limitação na detecção de mudanças na ingestão energética que podem ter contribuído para o aumento da adiposidade no grupo de intervenção).(17, 60)

Num outro ECR, em 64 crianças e adolescentes obesos com NAFLD, a suplementação probiótica durante 12 semanas associou-se, comparativamente ao placebo, a redução nos valores séricos de ALT e AST, triglicerídeos e LDL-c. As frequências de ecografia hepática normal e de esteatose de alto grau foram, respetivamente, superiores e inferiores no grupo de intervenção.(49, 61)

Apesar de os probióticos poderem ser promissores na melhoria da necroinflamação e da fibrose hepáticas associadas à NAFLD Pediátrica, mais estudos serão necessários para saber quais os tipos de estirpes probióticas seguras e eficazes a longo prazo para a recuperação do dano hepático nas crianças afetadas.(62)

Ácidos gordos ómega-3

Os PUFAs ω -3, como EPA e DHA, melhoram o metabolismo lipídico hepático e diminuem o stress oxidativo, tendo atividade anti-inflamatória. Assim, constituem uma potencial opção terapêutica na NAFLD pediátrica.(49, 55)

Num ECR por Nobili et al. que comparou a suplementação de DHA (250 ou 500 mg/dia) face ao placebo, durante 6 meses, em 60 crianças com NAFLD, verificou-se que DHA foi eficaz na redução da esteatose avaliada por ecografia hepática e na melhoria dos níveis de TG e de ALT, tendo sido a dose de 250 mg/dia já capaz de melhorar os parâmetros histológicos de NAFLD.(55)

Num outro estudo, por Janczyk et al., a suplementação de 450-1300 mg/dia de DHA e EPA (complementada por dieta e atividade física) durante 6 meses em 64 crianças com excesso de peso ou obesas com NAFLD, induziu, face ao placebo (ómega 6 presente em óleo de girassol), redução dos níveis séricos de AST e GGT e aumento da adiponectina circulante. Porém, não foi superior ao placebo na redução dos níveis séricos de ALT, do grau de esteatose à ecografia hepática e da insulinoresistência.(33, 55, 63)

Num estudo por Boyraz et al., em 108 adolescentes obesos, foi avaliada a eficácia da administração de 100 mg/dia de PUFA ω 3 face ao placebo, durante 12 meses. Em ambos os grupos, houve melhorias na esteatose hepática avaliada por ecografia e nos níveis séricos das aminotransferases, mas estas foram mais acentuadas no grupo sob PUFA ω 3. No grupo de intervenção, houve também melhoria significativa no perfil lipídico, com aumento dos níveis de HDL-c e redução dos triglicerídeos, e redução da insulinoresistência.(33, 64)

Num estudo mais recente por Spahis et al., em que foi comparada a resposta à suplementação com PUFA ω 3 (2 g/dia) durante 1 ano, em crianças com diferentes graus de

esteatose, verificou-se que esta induziu importantes reduções na esteatose e na atividade das enzimas hepáticas, assim como melhoria do perfil lipídico, redução nos marcadores de stress oxidativo e de espessura da carótida íntima-média, e aumento dos níveis circulantes de adiponectina face ao placebo.(33)

Recentemente, concluiu-se que a suplementação com PUFA ω_3 é uma opção segura, viável e eficaz, que reduz o conteúdo lipídico intrahepático em crianças e adultos.(33, 65)

Vitamina D

A correlação entre baixos níveis séricos de vitamina D e o aumento do estadio e gravidade de NAFLD foi recentemente observada na população pediátrica, estando já bem estabelecida em adultos.(66)

Um ECR publicado em 2021 averiguou a eficácia da suplementação de vitamina D sobre os parâmetros laboratoriais e a histologia hepática em crianças com NAFLD. Neste estudo, participaram 100 crianças obesas ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) com NAFLD e níveis séricos de vitamina D $< 20 \text{ ng/ml}$. No grupo de intervenção, 50 crianças receberam 2000 IU diárias de vitamina D₃ por 6 meses, enquanto no grupo placebo, as 50 crianças restantes receberam placebo por idêntico intervalo de tempo.(66)

No grupo de intervenção, houve decréscimo significativo no IMC, enzimas hepáticas, perfil lipídico, metabolismo da glicose e da insulinoresistência. Relativamente à histologia hepática, houve melhoria acentuada na esteatose e inflamação lobular, mas não na fibrose ou na degeneração balonizante dos hepatócitos, face aos valores pré-tratamento. Em contraste, no grupo placebo não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros laboratoriais nem na histologia hepática.(66)

Os resultados promissores e a ausência de relato de efeitos adversos convertem a suplementação de vitamina D numa potencial estratégia adjuvante na população pediátrica com NAFLD, sendo, todavia, necessários mais estudos.(66)

Orlistat

O orlistat é um inibidor da lipase gastrointestinal cuja eficácia é modesta. Num estudo, somente 26% das crianças alcançaram perda ponderal superior a 5%. Nos adultos, alguns ensaios clínicos sugerem redução da esteatose hepática, mas os resultados são conflituosos, e o seu papel na esteatohepatite e na fibrose ainda não se encontra determinado.(49)

Não sendo isento de efeitos adversos, a sua utilização na gestão de NAFLD em crianças e adolescentes é limitada.(49)

Outros fármacos em estudo

A partir de resultados obtidos em ensaios clínicos efetuados em adultos, o Losartan, o Ácido Obeticólico (OCA), o Elafibranor, o Selonsertib, a Pentoxifilina e o Cenicriviroc constituem potenciais opções terapêuticas, mas serão necessários estudos na população pediátrica.(55)

O Losartan, bloqueador do recetor da angiotensina II, tem sido alvo de estudos pediátricos.(15) Num estudo piloto (fase IIa), a administração diária de 100 mg de Losartan durante 6 meses em crianças com NASH resultou, face ao placebo, num maior decréscimo nos níveis séricos de ALT e AST, e na melhoria da insulinoresistência.(67) Contudo, num ECR mais recente, a administração diária de 100 mg de losartan durante 6 meses, em crianças com NAFLD, não induziu, face ao grupo placebo, redução significativa nos níveis de ALT, AST e GGT. Também não houve mudanças acentuadas no perfil lipídico, peso e IMC entre grupos.(68)

Relativamente aos restantes fármacos, evidência promissora advém de estudos em adultos.

Acerca do OCA, análogo do recetor farnesoide X (FXR), evidência promissora advém do ECR FLINT.(48) Neste, a administração diária de 25 mg de OCA durante 72 semanas em adultos com NASH resultou, face ao placebo, numa percentagem superior na melhoria histológica de NASH (45% versus 21%, $p=0,0002$) e numa taxa superior de regressão de fibrose. Foi também verificado que a sua administração durante 18 meses resultou na melhoria significativa de fibrose (regressão de um estadio) numa percentagem de sensivelmente o dobro no grupo de intervenção face ao placebo (23,1% versus 11,9%, $p=0,0002$). (15, 49)

Relativamente a Elafibranor, agonista duplo do *peroxisome proliferator-activated receptor type α/δ* (PPAR- α/δ), um ECR (fase IIb) em adultos com NASH, em que se procedeu à administração diária de 120 mg de Elafibranor durante 52 semanas, observou que este fármaco induziu melhoria na função hepática, na insulinoresistência, no perfil lipídico e nos níveis de marcadores inflamatórios face ao grupo placebo. Também a resolução de NASH sem piora de fibrose foi superior nos pacientes sob Elafibranor (120 mg) face ao placebo (19% versus 12%). (55, 69)

O Selonsertib, inibidor seletivo da cinase reguladora do sinal de apoptose 1, associou-se, num ECR (fase II), a melhoria na fibrose em pacientes adultos com fibrose moderada a grave (F2-F3). (15) Todavia, não evidenciou eficácia na gestão de NASH nos ECR STELLAR-3 (em adultos com fibrose avançada associada a NASH) e STELLAR-4 (em adultos com NASH e cirrose).(55)

A Pentoxifilina, bloqueadora da citocina proinflamatória TNF- α , também apresenta resultados contraditórios. Num ECR realizado em adultos com NASH, a sua administração durante 1 ano resultou na redução de NAS em ≥ 2 pontos em 50% dos pacientes do grupo de intervenção e na melhoria acentuada na esteatose, inflamação lobular e fibrose. Contudo, outro ECR não demonstrou diferença acentuada entre a pentoxifilina e o placebo quanto aos níveis de aminotransferases e à histologia.(49)

Relativamente ao Cenicriviroc, antagonista duplo dos recetores *C-C Chemokine Receptor Type 2* (CCR2) e *C-C Chemokine Receptor Type 5* (CCR5), foi observado, num ECR (fase IIb), que a sua administração em adultos com NASH resultou, ao fim de 1 ano, na melhoria de fibrose (em pelo menos 1 estadio) em mais pacientes comparativamente ao placebo (20% versus 10%; p= 0,02). (15)

4.5.3 Cirurgia bariátrica

A cirurgia bariátrica não constitui uma opção terapêutica específica na NAFLD pediátrica, mas é um procedimento a considerar nos adolescentes cujas tentativas de perda ponderal se revelaram infrutíferas.(3, 13, 54)

A NASH grave tem sido proposta como critério para a cirurgia bariátrica em adolescentes, apesar da escassez de ensaios clínicos que avaliem os efeitos da cirurgia sobre a primeira.(3, 54) Porém, num estudo multicêntrico por Manco et al., que comparou a eficácia da cirurgia bariátrica (por *laparoscopic sleeve gastrectomy*) face a medidas de estilo de vida em 20 adolescentes obesos com NAFLD, verificou-se que a primeira foi superior, com regressão do peso corporal em cerca de 21,5%, reversão de fibrose (F2) em 90%, completa resolução de NASH em todos os pacientes e posterior melhoria significativa das comorbilidades associadas.(13, 15, 49)

Para além do potencial de redução do grau de esteatose, inflamação hepática e fibrose na NASH, a cirurgia bariátrica pode, através da perda ponderal, promover o decréscimo da insulinoresistência e da dislipidemia, a melhoria do perfil tensional e a melhoria ou até resolução de SAOS, comorbilidade extremamente comum nos adolescentes candidatos a cirurgia.(54)

Os critérios para cirurgia bariátrica estão bem definidos na população adulta, mas há controvérsia na população pediátrica devido à escassez de informação relativa a repercussões a longo prazo.(54)

Assim, as indicações variam entre as guidelines, conforme expresso na Tabela 6.

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

Tabela 6 – Indicações para Cirurgia Bariátrica

Fontes: (3, 54)

Abreviaturas: DEXA: densitometria óssea; IAH: índice de apneia-hipopneia; IMC: índice de massa corporal

NASPGHAN (3)	ESPGHAN(54)
<p>Considerar cirurgia bariátrica em adolescentes selecionados com $IMC \geq 35$ kg/m² com NAFLD não cirrótica e com comorbidades graves (DMII, hipertensão craniana idiopática, SAOS grave) cuja melhoria com a cirurgia é provável.</p>	<p>Considerar cirurgia bariátrica em adolescentes com:</p> <ul style="list-style-type: none"> • $IMC > 40$ kg/m² e comorbidades major, como: DM2, SAOS moderada a grave com IAH>15 pseudotumor cerebri, NASH com fibrose significativa (score ISHAK\geq1); • $IMC > 50$ kg/m² e comorbidades ligeiras, como: HTA, insulinoresistência, intolerância à glicose, prejuízo da qualidade de vida, dislipidemia, SAOS com IAH >5; <p>Critérios adicionais para cirurgia bariátrica:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tentativa prévia de perda ponderal por medidas de estilo de vida; • Estadio Tanner \geq4; • Maturidade esquelética de 95% na DEXA; • Compromisso para com medidas de estilo de vida complementares; • Ambiente psicossocial estável. <p>Contra-indicações para cirurgia bariátrica em adolescentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Problema de abuso de substâncias; • Causa medicamente correlacionada com a obesidade; • Incapacidade que impeça adesão ao tratamento pós-operatório; • Gravidez; • Amamentação.

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica na Faixa Etária Pediátrica

Tendo em consideração os aspetos anteriormente referidos, encontra-se expressa, na seguinte figura, uma proposta de algoritmo clínico para o diagnóstico e gestão de NAFLD Pediátrica. (13)

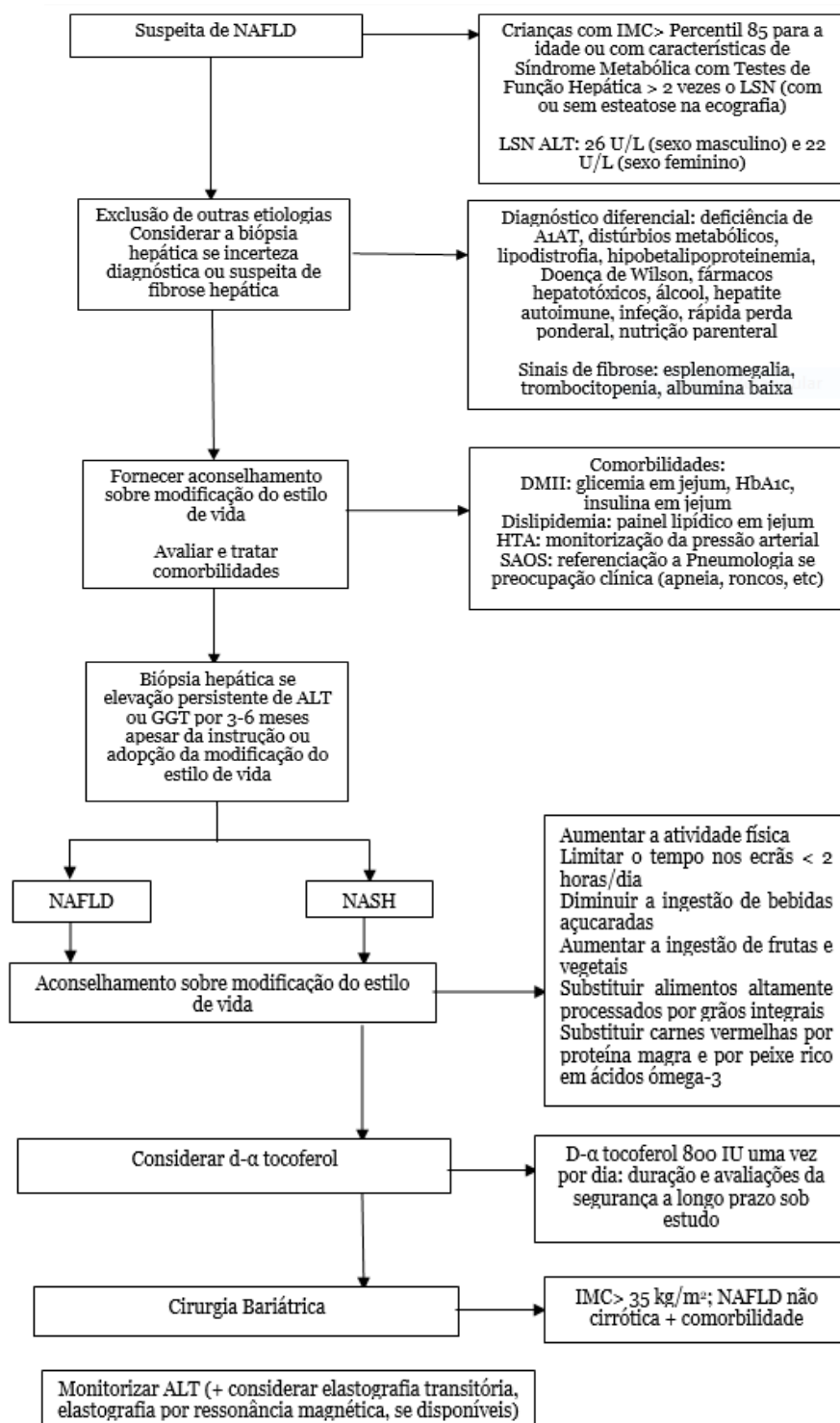


Figura 2 – Algoritmo de diagnóstico e gestão de NAFLD Pediátrica.

Fonte: (13)

Abreviaturas: A1AT: α1-antitripsina; ALT: alanina aminotransferase; DMII: diabetes mellitus tipo II; GGT: gamaglutamiltransferase; HTA: hipertensão arterial; IMC: índice de massa corporal; LSN: limite superior do normal; NAFLD: Nonalcoholic Fatty Liver Disease; NASH: Nonalcoholic Steatohepatitis; SAOS: síndrome de apneia obstrutiva do sono

5. Conclusão

Em Pediatria, a NAFLD constitui a principal causa de patologia hepática crônica em crianças e adolescentes, mas, apesar do progresso considerável na compreensão deste espectro de patologias, diversos mecanismos relacionados com a patofisiologia e a progressão do dano hepático requerem maior clarificação, uma vez que não se encontram completamente elucidados.

Outro aspeto que também exigirá mais estudos futuros é o relativo à história natural, uma vez que, atualmente, a evidência acerca desta é escassa. Tal carência de dados limita o entendimento sobre o prognóstico da NAFLD na população pediátrica, porque, apesar de se saber que todo o espectro patológico pode ocorrer na infância, não há uma ideia clara da extensão das crianças que, tendo NAFLD, poderão apresentar uma evolução agressiva rumo a fibrose avançada e cirrose durante a infância ou no início da idade adulta.

Devido às repercussões hepáticas e sistêmicas inerentes a NAFLD, é importante o seu diagnóstico atempado de modo que o tratamento seja iniciado num estadio precoce e reversível. Uma vez que a biópsia hepática tem indicações específicas para a sua aplicação, não podendo ser empregue em qualquer caso de suspeita de NAFLD, têm sido investigadas ferramentas não invasivas de diagnóstico. Apesar de algumas destas apresentarem evidência promissora, carecem de validação, pelo que serão necessários mais estudos antes da sua aplicação na prática clínica.

No que respeita às opções terapêuticas na NAFLD pediátrica, verifica-se que, nos últimos anos, tem aumentado o foco sobre a pesquisa farmacológica, em resultado da eficácia muitas vezes limitada que as intervenções fundamentadas no estilo de vida demonstram ter. Contudo, o número de ensaios clínicos acerca de opções farmacológicas é, na faixa pediátrica, limitado, sendo necessários mais ensaios clínicos para que a evidência seja mais robusta. Outras limitações nestes estudos constituem o tamanho reduzido das amostras, a heterogeneidade das populações analisadas e a variabilidade na duração dos tratamentos.

Assim, conclui-se que são exigidos mais estudos na população pediátrica para uma maior elucidação dos aspetos supracitados, mas também que são necessárias mudanças no quotidiano deste grupo etário, nomeadamente dos seus hábitos alimentares e de exercício, uma vez que a prevenção primária permitiria atenuar a carga de doença conferida pela NAFLD.

6.Referências

1. Selvakumar PKC, Kabbany MN, Nobili V, Alkhoury N. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Hepatic and Extrahepatic Complications. *Pediatr Clin North Am.* 2017;64(3):659-75.
2. Tzifi F, Fretzayas A, Chrousos G, Kanaka-Gantenbein C. Non-alcoholic fatty liver infiltration in children: an underdiagnosed evolving disease. *Hormones (Athens).* 2019;18(3):255-65.
3. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64(2):319-34.
4. Clemente MG, Mandato C, Poeta M, Vajro P. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: Recent solutions, unresolved issues, and future research directions. *World J Gastroenterol.* 2016;22(36):8078-93.
5. 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):328-57.
6. Braun HA, Faasse SA, Vos MB. Advances in Pediatric Fatty Liver Disease: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *Gastroenterol Clin North Am.* 2018;47(4):949-68.
7. Meex RCR, Watt MJ. Hepatokines: linking nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(9):509-20.
8. Fang YL, Chen H, Wang CL, Liang L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From "two hit theory" to "multiple hit model". *World J Gastroenterol.* 2018;24(27):2974-83.
9. Le Garf S, Nègre V, Anty R, Gual P. Metabolic Fatty Liver Disease in Children: A Growing Public Health Problem. *Biomedicines.* 2021;9(12).
10. Goyal NP, Schwimmer JB. The Progression and Natural History of Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis.* 2016;20(2):325-38.
11. Shah J, Okubote T, Alkhoury N. Overview of Updated Practice Guidelines for Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2018;14(7):407-14.
12. Panera N, Barbaro B, Della Corte C, Mosca A, Nobili V, Alisi A. A review of the pathogenic and therapeutic role of nutrition in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Res.* 2018;58:1-16.
13. Goldner D, Lavine JE. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Unique Considerations and Challenges. *Gastroenterology.* 2020;158(7):1967-83.e1.
14. Mandala A, Janssen RC, Palle S, Short KR, Friedman JE. Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Nutritional Origins and Potential Molecular Mechanisms. *Nutrients.* 2020;12(10).
15. Nobili V, Alisi A, Valenti L, Miele L, Feldstein AE, Alkhoury N. NAFLD in children: new genes, new diagnostic modalities and new drugs. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(9):517-30.
16. Mosca A, Panera N, Crudele A, Alisi A. Noninvasive diagnostic tools for pediatric NAFLD: where are we now? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020;14(11):1035-46.
17. Tokuhara D. Role of the Gut Microbiota in Regulating Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents. *Front Nutr.* 2021;8:700058.
18. Vittorio J, Lavine JE. Recent advances in understanding and managing pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *F1000Res.* 2020;9.

19. Mann JP, Valenti L, Scorletti E, Byrne CD, Nobili V. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children. *Semin Liver Dis.* 2018;38(1):1-13.
20. Arroyave-Ospina JC, Wu Z, Geng Y, Moshage H. Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Implications for Prevention and Therapy. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(2).
21. Dennis K, Anthony F, Stephen H, Dan L, James J, Joseph L. Harrison's Principles of Internal Medicine. 19 th ed. Steatohepatitis NFLDaN, Manal F. Abdelmalek AMD, editors. New York 2015. 3985 p.
22. Delli Bovi AP, Marciano F, Mandato C, Siano MA, Savoia M, Vajro P. Oxidative Stress in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. An Updated Mini Review. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:595371.
23. Wesolowski SR, Kasmi KC, Jonscher KR, Friedman JE. Developmental origins of NAFLD: a womb with a clue. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;14(2):81-96.
24. Breclj J, Orel R. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children. *Medicina (Kaunas).* 2021;57(7).
25. Brumbaugh DE, Friedman JE. Developmental origins of nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Res.* 2014;75(1-2):140-7.
26. Li M, Reynolds CM, Segovia SA, Gray C, Vickers MH. Developmental Programming of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Effect of Early Life Nutrition on Susceptibility and Disease Severity in Later Life. *Biomed Res Int.* 2015;2015:437107.
27. Ayonrinde OT, Oddy WH, Adams LA, Mori TA, Beilin LJ, de Klerk N, et al. Infant nutrition and maternal obesity influence the risk of non-alcoholic fatty liver disease in adolescents. *J Hepatol.* 2017;67(3):568-76.
28. Yang YJ, Ni YH. Gut microbiota and pediatric obesity/non-alcoholic fatty liver disease. *J Formos Med Assoc.* 2019;118 Suppl 1:S55-S61.
29. Marzuillo P, Miraglia del Giudice E, Santoro N. Pediatric fatty liver disease: role of ethnicity and genetics. *World J Gastroenterol.* 2014;20(23):7347-55.
30. Mann JP, Raponi M, Nobili V. Clinical implications of understanding the association between oxidative stress and pediatric NAFLD. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;11(4):371-82.
31. Nobili V, Mantovani A, Cianfarani S, Alisi A, Mosca A, Sartorelli MR, et al. Prevalence of prediabetes and diabetes in children and adolescents with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2019;71(4):802-10.
32. Eslam M, Valenti L, Romeo S. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *J Hepatol.* 2018;68(2):268-79.
33. Alberti G, Gana JC, Santos JL. Fructose, Omega 3 Fatty Acids, and Vitamin E: Involvement in Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients.* 2020;12(11).
34. Ullah R, Rauf N, Nabi G, Ullah H, Shen Y, Zhou YD, et al. Role of Nutrition in the Pathogenesis and Prevention of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Recent Updates. *Int J Biol Sci.* 2019;15(2):265-76.
35. Gonzalez A, Huerta-Salgado C, Orozco-Aguilar J, Aguirre F, Tacchi F, Simon F, et al. Role of Oxidative Stress in Hepatic and Extrahepatic Dysfunctions during Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:1617805.
36. Pacifico L, Chiesa C, Anania C, De Merulis A, Osborn JF, Romaggioli S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and the heart in children and adolescents. *World J Gastroenterol.* 2014;20(27):9055-71.
37. Liebe R, Esposito I, Bock HH, Vom Dahl S, Stindt J, Baumann U, et al. Diagnosis and management of secondary causes of steatohepatitis. *J Hepatol.* 2021;74(6):1455-71.

38. Hegarty R, Deheragoda M, Fitzpatrick E, Dhawan A. Paediatric fatty liver disease (PeFLD): All is not NAFLD - Pathophysiological insights and approach to management. *J Hepatol.* 2018;68(6):1286-99.
39. Vajro P, Lenta S, Socha P, Dhawan A, McKiernan P, Baumann U, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(5):700-13.
40. Chen BR, Pan CQ. Non-invasive assessment of fibrosis and steatosis in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2022;46(1):101755.
41. Trandafir LM, Frasinariu OE, Leon-Constantin MM, Chiriac Ş, Trandafirescu MF, Miron IC, et al. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease - a changing diagnostic paradigm. *Rom J Morphol Embryol.* 2020;61(4):1023-31.
42. Draijer L, Benninga M, Koot B. Pediatric NAFLD: an overview and recent developments in diagnostics and treatment. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;13(5):447-61.
43. Mansoor S, Collyer E, Alkhoury N. A comprehensive review of noninvasive liver fibrosis tests in pediatric nonalcoholic Fatty liver disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2015;17(6):23.
44. Yang HR, Kim HR, Kim MJ, Ko JS, Seo JK. Noninvasive parameters and hepatic fibrosis scores in children with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2012;18(13):1525-30.
45. Jackson JA, Konomi JV, Mendoza MV, Krasinskas A, Jin R, Caltharp S, et al. Performance of fibrosis prediction scores in paediatric non-alcoholic fatty liver disease. *J Paediatr Child Health.* 2018;54(2):172-6.
46. Alkhoury N, Mansoor S, Giammaria P, Liccardo D, Lopez R, Nobili V. The development of the pediatric NAFLD fibrosis score (PNFS) to predict the presence of advanced fibrosis in children with nonalcoholic fatty liver disease. *PLoS One.* 2014;9(8):e104558.
47. Mandelia C, Kabbany MN, Conjeevaram Selvakumar PK, Alkhoury N. The search for noninvasive methods to identify liver fibrosis in children with nonalcoholic fatty liver disease. *Biomark Med.* 2018;12(3):265-73.
48. Crespo M, Lappe S, Feldstein AE, Alkhoury N. Similarities and differences between pediatric and adult nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism.* 2016;65(8):1161-71.
49. Liyanagedera S, Williams RP, Veraldi S, Nobili V, Mann JP. The pharmacological management of NAFLD in children and adolescents. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2017;10(11):1225-37.
50. Yurtdaş G, Akbulut G, Baran M, Yılmaz C. The effects of Mediterranean diet on hepatic steatosis, oxidative stress, and inflammation in adolescents with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *Pediatr Obes.* 2022;17(4):e12872.
51. Goss AM, Dowla S, Pendergrass M, Ashraf A, Bolding M, Morrison S, et al. Effects of a carbohydrate-restricted diet on hepatic lipid content in adolescents with non-alcoholic fatty liver disease: A pilot, randomized trial. *Pediatr Obes.* 2020;15(7):e12630.
52. Schwimmer JB, Ugalde-Nicalo P, Welsh JA, Angeles JE, Cordero M, Harlow KE, et al. Effect of a Low Free Sugar Diet vs Usual Diet on Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adolescent Boys: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2019;321(3):256-65.
53. Medrano M, Arenaza L, Ramírez-Vélez R, Ortega FB, Ruiz JR, Labayen I. Prevalence of responders for hepatic fat, adiposity and liver enzyme levels in response to a lifestyle intervention in children with overweight/obesity: EFIGRO randomized controlled trial. *Pediatr Diabetes.* 2020;21(2):215-23.
54. Nobili V, Vajro P, Dezsofi A, Fischler B, Hadzic N, Jahnel J, et al. Indications and limitations of bariatric intervention in severely obese children and adolescents with and

without nonalcoholic steatohepatitis: ESPGHAN Hepatology Committee Position Statement. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60(4):550-61.

55. Crudele A, Panera N, Braghini MR, Balsano C, Alisi A. The pharmacological treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2020;13(11):1219-27.

56. Nobili V, Alisi A, Mosca A, Crudele A, Zaffina S, Denaro M, et al. The Antioxidant Effects of Hydroxytyrosol and Vitamin E on Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease, in a Clinical Trial: A New Treatment? *Antioxid Redox Signal.* 2019;31(2):127-33.

57. Zöhrer E, Alisi A, Jahnel J, Mosca A, Della Corte C, Crudele A, et al. Efficacy of docosahexaenoic acid-choline-vitamin E in paediatric NASH: a randomized controlled clinical trial. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2017;42(9):948-54.

58. Schwimmer JB, Lavine JE, Wilson LA, Neuschwander-Tetri BA, Xanthakos SA, Kohli R, et al. In Children With Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Cysteamine Bitartrate Delayed Release Improves Liver Enzymes but Does Not Reduce Disease Activity Scores. *Gastroenterology.* 2016;151(6):1141-54.e9.

59. Alisi A, Bedogni G, Baviera G, Giorgio V, Porro E, Paris C, et al. Randomised clinical trial: The beneficial effects of VSL#3 in obese children with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(11):1276-85.

60. Jones RB, Alderete TL, Martin AA, Geary BA, Hwang DH, Palmer SL, et al. Probiotic supplementation increases obesity with no detectable effects on liver fat or gut microbiota in obese Hispanic adolescents: a 16-week, randomized, placebo-controlled trial. *Pediatr Obes.* 2018;13(11):705-14.

61. Famouri F, Shariat Z, Hashemipour M, Keikha M, Kelishadi R. Effects of Probiotics on Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Obese Children and Adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64(3):413-7.

62. Putignani L, Alisi A, Nobili V. Pediatric NAFLD: the Future role of Patient-Tailored Probiotics Therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;63 Suppl 1:S6-8.

63. Janczyk W, Lebensztejn D, Wierzbicka-Rucińska A, Mazur A, Neuhoff-Murawska J, Matusik P, et al. Omega-3 Fatty acids therapy in children with nonalcoholic Fatty liver disease: a randomized controlled trial. *J Pediatr.* 2015;166(6):1358-63.e1-3.

64. Boyraz M, Pirgon Ö, Dündar B, Çekmez F, Hatipoğlu N. Long-Term Treatment with n-3 Polyunsaturated Fatty Acids as a Monotherapy in Children with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2015;7(2):121-7.

65. Spooner MH, Jump DB. Omega-3 fatty acids and nonalcoholic fatty liver disease in adults and children: where do we stand? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2019;22(2):103-10.

66. El Amrousy D, Abdelhai D, Shawky D. Vitamin D and nonalcoholic fatty liver disease in children: a randomized controlled clinical trial. *Eur J Pediatr.* 2022;181(2):579-86.

67. Vos MB, Jin R, Konomi JV, Cleeton R, Cruz J, Karpen S, et al. A randomized, controlled, crossover pilot study of losartan for pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Pilot Feasibility Stud.* 2018;4:109.

68. Vos MB, Van Natta ML, Blondet NM, Dasarathy S, Fishbein M, Hertel P, et al. Randomized placebo-controlled trial of losartan for pediatric NAFLD. *Hepatology.* 2022;76(2):429-44.

69. Ratziu V, Harrison SA, Francque S, Bedossa P, Lehert P, Serfaty L, et al. Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and - δ , Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis Without Fibrosis Worsening. *Gastroenterology.* 2016;150(5):1147-59.e5.