

Clasificación histológica para hígado graso no alcohólico: *NAFLD activity score (NAS)*

Juan Pablo Arab V.¹, Kurt A. Schalper C.² y Marco Arrese J.¹

Historical scoring system for nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD activity score (NAS)

Introducción

A pesar de su elevada incidencia y estrecha asociación con alteraciones metabólicas y obesidad, no existen en la actualidad marcadores no invasivos que tengan alto valor predictivo para tamizaje o detección temprana de formas agresivas de hígado graso no alcohólico (HGNA). En consecuencia, la biopsia hepática continúa siendo el examen estándar para el adecuado diagnóstico y etapificación del paciente con HGNA. Mediante la evaluación del grado de esteatosis, actividad inflamatoria, daño parenquimatoso y presencia de remodelación tisular/fibrosis, el estudio histopatológico ayuda a distinguir sujetos con HGNA no progresivo de aquellos con esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) y potencial de progresar a formas de daño hepático más avanzado como la cirrosis¹. Adicionalmente, la biopsia puede orientar acerca de causas específicas de HGNA/EHNA que pueden requerir tratamiento dirigido como trastornos hormonales, genéticos, exposición a sustancias tóxicas y reacciones adversas a medicamentos, entre otras. Finalmente, la biopsia permite establecer la magnitud de la fibrosis hepática, haciendo posible la etapificación del HGNA. Debe recordarse que la biopsia hepática representa cuantitativamente la realidad de 1 de 50.000 parte del hígado y, por lo tanto, también puede haber un error de muestreo según en qué parte del hígado se obtuvo la muestra, y por lo mismo 2 ó 3 biopsias en el mismo sujeto pueden arrojar resultados algo diferentes. Si bien no existe en la actualidad una definición universalmente aceptada, se considera HGNA a la presencia de esteatosis hepática asociada a trastornos metabólicos y evidencia histopatológica de daño hepatocelular, generalmente, en ausencia de alguna causa específica secundaria, sin embargo, puede coexistir con otras etiologías. Por su parte, la EHNA corresponde a la presencia de esteatosis e inflamación asociada a signos morfológicos de daño de hepatocitos (ej. balonización), con o sin fibrosis.

Un elemento esencial del estudio histológico es su naturaleza cualitativa que permite evaluar simultáneamente diversos elementos con representación

morfológica que se desvían de un patrón de referencia considerado como normal (Figura 1A). Típicamente, un patólogo evalúa diversos campos de una muestra y reúne los hallazgos más prominentes o característicos para comunicarlos mediante una apreciación diagnóstica global en el informe. Esta aproximación es simple, relativamente rápida, de bajo costo y permite integrar diversos elementos multidimensionales en un sólo reporte. Desafortunadamente, la utilización de parámetros subjetivos limita la capacidad de cuantificar los hallazgos y la reproducibilidad en la identificación de caracteres específicos. A este respecto, la concordancia reportada entre observadores expertos para la detección de los hallazgos morfológicos más característicos de HGNA y EHNA es moderada a elevada².

Al igual que en iniciativas previas^{3,4} y con el propósito de estandarizar los elementos histopatológicos diagnósticos y pronósticos de HGNA en biopsias hepáticas, en el año 2005 David E. Kleiner y cols. del grupo de investigación *NASH Central Research Network (NASH CRN)* describieron el diseño y validación de un sistema de puntuación para HGNA⁵ conocido como *NAFLD activity score (NAS)* que revisaremos en este artículo y que permite homogenizar la información histopatológica diagnóstica en todo el espectro de HGNA, en forma reproducible, tanto para adultos como para niños, con fines de estudios y publicaciones científicas. Es relevante destacar que si bien el *score* de NAS no fue creado para el diagnóstico de EHNA, sino sólo para estratificación pronóstica, diversos centros utilizan la puntuación para sustentar el diagnóstico.

Características histológicas del HGNA

Como se mencionó anteriormente, las principales características histopatológicas de HGNA/EHNA incluyen: *i)* esteatosis; *ii)* inflamación; *iii)* daño hepatocelular; y *iv)* presencia de fibrosis. En general, las alteraciones son evaluadas en preparaciones de tejido con tinción convencional de hematoxilina & eosina o

¹Departamento de Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
²Department of Pathology, Yale School of Medicine, New Haven, CT, EE.UU.

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Recibido: 01 de septiembre de 2014
Aceptado: 18 de octubre de 2014

Correspondencia a:

Dr. Juan Pablo Arab Verdugo
Departamento de Gastroenterología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Marcoleta 367, Santiago, Casilla 114-D
Teléfono: [+56 2] 26863845
Fax: [+56 2] 26397780
jparab@med.puc.cl

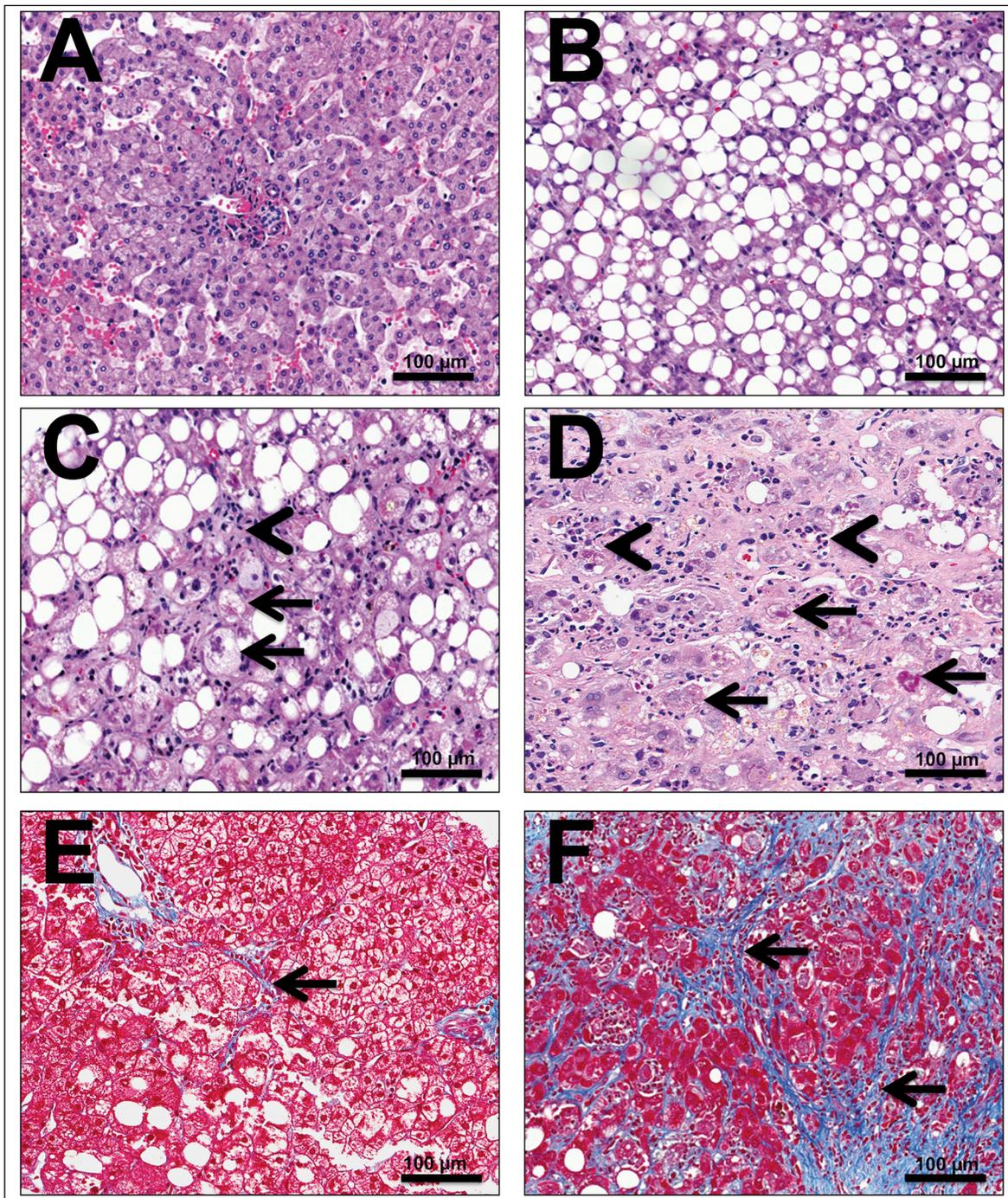


Figura 1. Alteraciones morfológicas del tejido hepático en HGNA/EHNA. A) Imagen representativa de tejido hepático morfológicamente normal. Se reconocen estructuras cordonales compuestas por una fila de hepatocitos normotípicos separados por sinusoides hepáticos; que rodean un espacio porta que contiene un conducto biliar y estructuras vasculares de estructura conservada. No se reconoce esteatosis ni infiltrados inflamatorios. **B)** Tejido hepático con acentuada esteatosis predominantemente macrovesicular e infiltrado inflamatorio lobulillar leve, predominantemente linfocitario. **C)** Tejido hepático con prominente esteatosis de tipo macrovesicular, infiltrado inflamatorio linfocitario (cabeza de flecha) y balonización focal de hepatocitos con presencia de cuerpos de Mallory-Denk (flechas). **D)** Tejido hepático con leve esteatosis, acentuado infiltrado inflamatorio predominantemente neutrofillico (cabezas de flecha) y marcada balonización de hepatocitos, algunos de ellos con cuerpos de Mallory-Denk intracitoplasmáticos (flechas). **E)** Tejido hepático con esteatosis focal y mínima fibrosis lobulillar (fibras de color azul, tinción de Tricrómico de Masson). **F)** Tejido hepático con distorsión arquitectural, esteatosis leve, acentuado infiltrado inflamatorio y fibrosis acentuada pericelular, periportal y con formación de puentes (flechas, tinción de Tricrómico de Masson). Barra = 100 µm.

Clasificaciones en Gastroenterología

con tinciones especiales de lípidos y colágenos (ej. Oil red-O, Tricrómico de Masson, etc.). La ausencia de definiciones estrictas de algunos elementos diagnósticos y la presencia de “imitadores” sin significado patológico pueden dificultar la interpretación de la biopsia hepática en HGNA/EHNA (ver más abajo).

i) Esteatosis

Es el elemento morfológico central del HGNA y corresponde a la acumulación de vesículas lipídicas (predominantemente triglicéridos) en el parénquima hepático, típicamente localizados en la zona 3. En tinciones convencionales de hematoxilina y eosina, la esteatosis se visualiza como la presencia de espacios circulares ópticamente vacíos de tamaño variable en el citoplasma de los hepatocitos (Figura 1B). En general, se ha aceptado para diagnóstico de HGNA la presencia de esteatosis predominantemente macrovesicular en más de 5% de los hepatocitos de la muestra. La utilización de este límite es una definición operacional y la determinación de 5% es en realidad una estimación integrada de todos los campos de la muestra evaluados por el patólogo. Se denomina esteatosis macrovesicular cuando las gotas lipídicas son relativamente grandes, fácilmente identificables y desplazan hacia la periferia el núcleo del hepatocito (Figura 1B-C). También la esteatosis puede ser de tipo microvesicular, donde el núcleo no está desplazado y las gotas individuales son difíciles de visualizar con técnica histológica convencional. No existe en la actualidad una métrica que permita separar las gotas lipídicas grandes de las pequeñas. La presencia de esteatosis microvesicular se asocia a signos de daño hepatocelular que incluyen megamitocondrias, balonización y fibrosis^{6,7}. La presencia de esteatosis exclusivamente microvesicular es inusual en EHNA y debe orientar hacia la búsqueda de otras causas específicas de HGNA como daño hepático por drogas o trastornos del metabolismo de ácidos grasos de cadena larga.

ii) Inflamación

La presencia de un infiltrado inflamatorio es otro pilar del diagnóstico de EHNA y corresponde típicamente a la presencia de linfocitos y granulocitos neutrófilos y/o eosinófilos en el tejido hepático (Figura 1C-D, cabezas de flecha). La inflamación en EHNA es característicamente con patrón lobulillar y la presencia de un componente inflamatorio mayor en espacios porta, de acúmulos linfoides nodulares o de células plasmáticas debe hacer sospechar otras entidades diagnósticas. Asimismo, la presencia de infiltrado inflamatorio compuesto mayoritariamente por granulocitos eosinófilos o con granulomas epiteloideos debería gatillar estudios adicionales para descartar otras entidades. En EHNA, pueden identificarse ocasionalmente agregados focales de células fagocíticas

(células de Kupffer) con contenido lipídico (lipogranulomas) o sin estos (microgranulomas). Grandes focos inflamatorios lobulillares son frecuentes en áreas de fibrosis de la zona 3, y que inicialmente se pueden confundir con espacios porta debido a la presencia de una rama arterial⁸. En ocasiones, la existencia de inflamación portal significativa puede llevar a confusión diagnóstica. La presencia de esta característica es más frecuente de observar en población pediátrica y puede representar una forma más agresiva de la enfermedad⁹.

iii) Daño hepatocelular

Uno de los elementos morfológicos más característicos de daño parenquimatoso en EHNA y de mayor valor diagnóstico/pronóstico es la presencia de hepatocitos “balonizados”. A pesar de que no existe acuerdo sobre una definición estricta y universalmente aceptada de hepatocito “balonizado”, se ha descrito como un aumento de tamaño celular con aparición de contornos redondeados y rarefacción citoplasmática¹⁰ (Figura 1C-D, flechas). Los hepatocitos balonizados se encuentran típicamente en zonas con esteatosis (zona 3), se acompañan de cuerpos hialinos de Mallory-Denk y presentan baja expresión de citoqueratinas 8 y 18 en la inmunohistoquímica¹¹. La balonización es un fenómeno que permanece poco comprendido y, a pesar de su relevancia, su identificación presenta mayor variabilidad entre observadores^{2,5}. Otra lesión común en la esteatohepatitis es la apoptosis; que se identifica como la presencia de un fragmento citoplásmico redondeado libre dentro de los sinusoides con o sin material nuclear hiper cromático. También se pueden observar gránulos de hierro en los hepatocitos o dentro de las células reticuloendoteliales del hígado. Cuando se observan ambos, se debe sospechar enfermedad del metabolismo del hierro. La glicogenación nuclear es común en todas las formas de HGNA.

iv) Fibrosis

La fibrosis corresponde a la presencia exacerbada de fibras de matriz extracelular, predominantemente colágeno, en el tejido hepático. La adecuada evaluación de fibrosis requiere habitualmente de técnicas histoquímicas como la tinción de rojo picrosirio, Van Gieson o Tricrómico de Masson (Figura 1E-F, flechas). El patrón de fibrosis en la EHNA es característico con distribución perisinusoidal y por lo general comienza, o es más prominente, en la zona 3. En general, la fibrosis leve forma bandas colágenas finas, no confluentes, con patrón pericelular (Figura 1E). Con la progresión, se reconoce la acumulación de fibrosis en espacios porta, formación de puentes de fibrosis entre las estructuras vasculares y posterior formación de nódulos fibrosos resultando finalmente en cirrosis (Figura 1F). Hay acuerdo general en que

la progresión de la fibrosis en adultos con EHNA comienza con fibrosis perisinusoidal seguido por otros patrones. La fibrosis portal puede desarrollarse con la progresión y se ve a menudo en presencia de fibrosis pericelular. Con el desarrollo de fibrosis en puente o cirrosis, la fibrosis pericelular puede desaparecer. Un estudio reciente mostró que las fibras elásticas (denotan tiempo transcurrido de los depósitos de colágeno), están presentes en las fases de puente y cirrosis¹². Cabe destacar que la fibrosis densa perisinusoidal conocida como hepatoesclerosis puede ocurrir en diabéticos tipo 1. Este patrón no se asocia con esteatosis o actividad necroinflamatoria¹³.

Clasificación del HGNA

Al igual que los sistemas de clasificación de hepatitis crónica, los sistemas de puntuación de HGNA existentes son más útiles para la investigación que para el diagnóstico. El primer sistema de clasificación histológica de EHNA fue propuesto por Brunt y cols., basado en biopsias de pacientes adultos⁴. Este sistema de evaluación semi-cuantitativa se basó en la idea de que el diagnóstico histológico de EHNA se basa en una constelación de características más que en una en particular. Este enfoque fue desarrollado posteriormente por Kleiner y cols., en el estudio *MIDDK NASH CRN*⁵ para proporcionar un sistema de puntuación semi-cuantitativa para la enfermedad por HGNA en población adulta y pediátrica. Las biopsias se evaluaron rutinariamente con tinción de hematoxilina y eosina, y tinción de Tricrómico de Masson. En este sistema de puntuación, las características histológicas se agrupan en cinco categorías: esteatosis, inflamación, daño hepatocelular, fibrosis y características misceláneas (Tabla 1). Este método fue validado por un grupo de trabajo después de múltiples lecturas, demostrando que el acuerdo entre patólogos en los casos de HGNA adulto muestran concordancia moderada en las principales categorías de características patológicas, incluyendo esteatosis, fibrosis y balonización con valores kappa ponderados superior a 0,5.

Desde su publicación en 2005, el sistema del grupo de investigación *NASH Central Research Network (NASH CRN)* ha sido utilizado para evaluar los cambios histológicos en diversos estudios, incluyendo el estudio PIVENS¹⁴.

El sistema de puntuación de actividad fue creado analizando 14 características histológicas que fueron correlacionadas por regresión logística con el diagnóstico de EHNA. Finalmente se construyó un *score* incluyendo los 3 parámetros con mayor significancia estadística y evaluados semi-cuantitativamente que se suman para obtener un puntaje de 0-8 puntos: esteatosis (0-3), inflamación lobular (0-3), balonización (0-2)

Tabla 1. Clasificación histológica de actividad de hígado graso no alcohólico (adaptado de Kleiner et al. 2005)⁵

NAFLD Activity Score (NAS) (0-8)	
Suma de los puntajes de esteatosis, inflamación lobular y balonización hepatocelular	
Esteatosis (0-3)	
0 = < 5% hepatocitos comprometidos	
1 = 5-33% hepatocitos comprometidos	
2 = 33-66% hepatocitos comprometidos	
3 = > 66% hepatocitos comprometidos	
Inflamación lobular (0-3)	
0 = ninguna	
1 = < 2 focos por campo óptico x200	
2 = 2-4 focos por campo óptico x200	
3 = > 4 focos por campo óptico x200	
Balonización de hepatocitos (0-2)	
0 = ninguno	
1 = pocas células balonizadas	
2 = muchas células/balonización prominente	
Correlación entre el total de puntaje NAS y el diagnóstico global histológico de esteatohepatitis	
NAFLD activity score	Diagnóstico histológico de esteatohepatitis
≥ 5	EHNA probable o definitivo
3-4	Indeterminado
≤ 2	No EHNA
Puntuación de fibrosis	
1 Perisinusoidal o periportal	
1A Leve fibrosis perisinusoidal en zona 3	
1B Moderada fibrosis perisinusoidal en la zona 3	
1C Sólo fibrosis portal/periportal	
2 Fibrosis perisinusoidal en la zona 3, con fibrosis portal/periportal	
3 Puentes de fibrosis	
4 Cirrosis	

(Tabla 1). Si bien el puntaje NAS no es diagnóstico *per se*, sus valores se correlacionan con el diagnóstico histopatológico. En la serie retrospectiva, casos con puntajes de 0-2 rara vez fueron diagnosticados como EHNA, mientras que aquellos con puntajes mayores o iguales a 5 fueron comúnmente diagnosticados como EHNA. Aquellos casos con valores intermedios no fueron bien clasificados, por lo que no tendrían valor diagnóstico.

Adicionalmente la fibrosis, por ser una variable considerada irreversible, se evalúa por separado, usando una escala de 4 etapas que van desde la ausencia de fibrosis hasta cirrosis (Tabla 1). La etapa 1 se subdivide en tres sub-etapas para diferenciar entre la fibrosis perisinusoidal leve de la zona 3 (estadio 1a), fibrosis perisinusoidal marcada de la zona 3 (estadio 1b) y fibrosis portal (estadio 1c). La etapa 1c se ve sobre todo en pacientes con obesidad mórbida y en pacientes pediátricos con EHNA. Las otras características no incluidas en el puntaje NAS: esteatosis

Clasificaciones en Gastroenterología

microvesicular, cuerpos acidófilos, microgranulomas, lipogranulomas, macrófagos pigmentados, megamitochondrias, cuerpos de Mallory y núcleos glicogenados son evaluados cualitativamente como presente o ausente.

Utilidad y limitaciones

Aunque los autores del puntaje NAS destacan que la puntuación no debe ser utilizada para obtener el diagnóstico de EHNA, debido a su diseño, los puntajes más altos se correlacionan con una mayor frecuencia de diagnóstico de EHNA. Lamentablemente, algunas publicaciones y centros de salud han considerado un NAS de ≥ 5 como criterio diagnóstico de EHNA. Un estudio del año 2011 del grupo de investigación *NASH CRN* evaluó el NAS comparado con el diagnóstico histopatológico de EHNA y encontró que no todas las biopsias con NAS de ≥ 5 tienen resultados que cumplen con los criterios diagnósticos de esteatohepatitis y que muchos casos con NAS ≤ 4 si lo hacen. Los autores concluyeron que aunque el diagnóstico definitivo de la EHNA es más probable con puntuaciones más altas, la puntuación no debe utilizarse para decidir si es o no EHNA. Además, el proceso de diagnóstico y categorización de pacientes, si bien llevan a resultados relacionados entre sí, sirven a distintos propósitos, por lo que aconsejan que se realicen por separado¹⁵.

Una de las principales limitaciones de la clasificación histopatológica de HGNA es la limitada concordancia entre observadores de variables morfológicas subjetivas. De hecho, la concordancia para identificación de esteatosis entre patólogos considerados expertos y analizando las mismas preparaciones alcanzó un índice de kappa (k) de 0,79 (~21% de casos discordantes). Más aún, la concordancia del puntaje de inflamación lobulillar fue de sólo 0,45 y de balonización alcanzó un k de 0,56⁵. Si se considera además, la variación local o heterogeneidad de los parámetros morfológicos, se vislumbran cifras de rendimiento preocupantes para la práctica clínica. La utilización de nuevas estrategias basadas en microscopía de fluorescencia para la medición objetiva de los niveles de esteatosis, inflamación, daño hepatocelular y fibrosis utilizando variables continuas podría servir para superar estas limitaciones. A este respecto, nuestro grupo ha trabajado previamente con la medición de intensidad de fluorescencia a 545 nm de preparaciones de tejido hepático teñidas con Oil red O. Estrategias similares podrían utilizarse para determinar el nivel de fibrosis utilizando la tinción de Rojo picrosirio, inmunofluorescencia para CD3, CD20 y mieloperoxidasa para inflamación y queratinas diferenciales para detectar hepatocitos balonizados. Nuevas estrategias

de cuantificación y análisis de imágenes disponibles comercialmente como las plataformas Inform (Perkin-Elmer), Definiens (Aperio) y AQUA (Genoptix) podrán sustentar mediciones reproducibles de dichos parámetros.

Para obtener una adecuada representatividad de la muestra, la longitud de la biopsia es un parámetro importante al momento de evaluar el tejido hepático con fines de diagnóstico e investigación. Se ha propuesto que una biopsia adecuada debe contener al menos 16 mm¹⁶ y tener un diámetro de 1,2 a 1,8 mm. Esto puede ser estimado basado en la presencia de, al menos, 10 espacios portales evaluables.

Finalmente, es relevante mencionar que todas las asociaciones encontradas para el desarrollo del índice de NAS están basadas en el análisis retrospectivo, utilizando como parámetro de referencia el diagnóstico histopatológico. Si bien esto permite establecer el rendimiento del puntaje NAS respecto a la biopsia analizada por expertos, no asegura completamente la certeza diagnóstica ni la evolución biológica/médica de los pacientes evaluados. Estudios similares, utilizando como parámetro de referencia la evolución, progresión y sobrevida de pacientes serán requeridos para poder validar clínicamente el valor predictivo de herramientas como el puntaje de NAS.

Conclusión

Junto con la epidemia mundial de obesidad ha aumentado la prevalencia de HGNA, lo que hace cada vez más probable estos hallazgos en las biopsias hepáticas. El sistema de puntuación NAS es un avance significativo para estudios en HGNA, tanto para adultos como para pacientes pediátricos, pero tiene limitaciones y no debe usarse para el diagnóstico propiamente tal de HGNA. Su utilidad es proporcionar una herramienta uniforme y razonablemente reproducible para evaluar la gravedad de la enfermedad en ensayos clínicos, y en estudios de historia natural y de evaluación de respuesta al tratamiento. Se requiere mayor investigación y evaluación de la evolución histológica de la enfermedad, en conjunto con parámetros genéticos, bioquímicos y radiológicos involucrados en el desarrollo, progresión, regresión de la EHNA. La utilización de nuevos métodos objetivos que permitan hacer mediciones cuantitativas de los parámetros tisulares de interés permitirá caracterizar mejor los determinantes biológicos y establecer la utilidad clínica de los marcadores. Se requerirán además, estudios para validar el valor predictivo de los indicadores morfológicos del *score* de NAS utilizando como parámetro de referencia la evolución clínica/de laboratorio de los pacientes, su grado de progresión de enfermedad hepática y la sobrevida.

Referencias

- 1.- Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129: 113-21.
- 2.- Younossi ZM, Gramlich T, Liu YC, Matteoni C, Petrelli M, Goldblum J, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: assessment of variability in pathologic interpretations. *Mod Pathol* 1998; 11: 560-5.
- 3.- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-9.
- 4.- Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-74.
- 5.- Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-21.
- 6.- Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. *Semin Liver Dis* 2012; 32: 3-13.
- 7.- Tandra S, Yeh MM, Brunt EM, Vuppalanchi R, Cummings OW, Unalp-Arida A, et al. Presence and significance of microvesicular steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 654-9.
- 8.- Gill RM, Belt P, Wilson L, Bass NM, Ferrell LD. Centrizonal arteries and microvessels in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Surg Pathol* 2011; 35: 1400-4.
- 9.- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Unalp A, Behling CE, Lavine JE, et al. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology* 2009; 49: 809-20.
- 10.- Yeh MM, Brunt EM. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 837-47.
- 11.- Lackner C, Gogg-Kamerer M, Zatloukal K, Stumptner C, Brunt EM, Denk H. Ballooned hepatocytes in steatohepatitis: the value of keratin immunohistochemistry for diagnosis. *J Hepatol* 2008; 48: 821-8.
- 12.- Nakayama H, Itoh H, Kunita S, Kuroda N, Hiroi M, Matsuura H, et al. Presence of perivenular elastic fibers in nonalcoholic steatohepatitis Fibrosis Stage III. *Histol Histopathol* 2008; 23: 407-9.
- 13.- Harrison SA, Brunt EM, Goodman ZD, Di Bisceglie AM. Diabetic hepatosclerosis: diabetic microangiopathy of the liver. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 27-32.
- 14.- Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 362: 1675-85.
- 15.- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA, Network NCR. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology* 2011; 53: 810-20.
- 16.- Goldstein NS, Hastah F, Galan MV, Gordon SC. Fibrosis heterogeneity in nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C virus needle core biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 382-7.