UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE (UFCSPA)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HEPATOLOGIA

Muriel Manica

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS ESCORES AGILE 3+ E AGILE 4 EM PACIENTES COM DOENÇA HEPÁTICA ESTEATÓTICA METABÓLICA: ESTUDO TRANSVERSAL

Porto Alegre

2025

Muriel Manica

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS ESCORES AGILE 3+ E AGILE 4 EM PACIENTES COM DOENÇA HEPÁTICA ESTEATÓTICA METABÓLICA: ESTUDO TRANSVERSAL

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre

Orientadora: Prof. Dra. Cristiane Valle Tovo

Co-orientador: Prof. Luis Fernando Ferreira

Porto Alegre

2025

Catalogação na Publicação

Manica, Muriel
Avaliação do desempenho dos escores Agile 3+ e Agile 4 em pacientes com doença hepática esteatótica metabólica: estudo transversal / Muriel Manica. -- 2025.
47 p. : il., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia, 2025.

Orientador(a): Prof. Dra. Cristiane Valle Tovo ; coorientador(a): Prof. Dr. Luis Fernando Ferreira.

1. MASLD. 2. Esteatose hepática. 3. Fibrose hepática. 4. Cirrose. 5. Esteatose hepática metabólica. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

Concluir o mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina:Hepatologia da UFCSPA representa não somente o encerramento de uma etapa acadêmica. Esse momento é a materialização de uma trajetória construída numa instituição pela qual tenho profundo respeito, a Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), onde, desde o início da residência médica até a pós-graduação, fui orientada com o apoio e o carinho de pessoas que, desde que conheci, ainda na Graduação, são um exemplo para mim.

Agradeço imensamente à minha orientadora, Prof. Cristiane Valle Tovo**,** por todo o conhecimento transmitido nessa trajetória e pela confiança que depositou em mim. Seus ensinamentos foram fundamentais para meu crescimento acadêmico e pessoal. Foi um privilégio e uma alegria a nossa convivência nessas etapas da minha formação.

Ao meu co-orientador, Prof. Luis Fernando Ferreira**,** agradeço por toda a contribuição desde o início desse projeto. Agradeço por despertar, sempre, o pensamento crítico e por toda a disponibilidade e clareza nos momentos de dúvidas.

Sou, também, grata aos professores Prof Gabriela Perdomo Coral, Prof. Ângelo Zambam de Mattos, Prof. Ângelo Alves de Mattos e Prof. Júlio Carlos Pereira Lima, por terem feito da residência médica em Gastroenterologia um período muito especial e de crescimento na minha vida, e do qual lembro com muito carinho e satisfação.

Ao meu noivo, Augusto, meu companheiro, amigo e amor, que esteve ao meu lado em todas as etapas, obrigada por acreditar nos meus objetivos e por sempre me incentivar a conquistá-los.

E à minha família – mamãe, papai e Mônica, obrigada por mostrarem desde cedo, a importância do estudo e da dedicação. Obrigada pelo amor e presença incondicionais de sempre, independente da distância física.

RESUMO

Introdução: O prognóstico da Doença Hepática Esteatótica Metabólica (do inglês – *metabolic associated steatotic liver disease* – MASLD) está relacionado à presença de fibrose hepática (FH). Os escores Agile 3+ e Agile 4 foram propostos como métodos não invasivos para identificar, respectivamente, fibrose avançada e cirrose, associando a elastografia transitória vibratória (VCTE) com dados clínicos e laboratoriais. **Objetivo:** Avaliar o desempenho dos escores Agile na avaliação da FH em pacientes com MASLD. **Métodos:** Estudo transversal multicêntrico realizado em pacientes acompanhados no ambulatório de hepatologia em três hospitais de atendimento terciário no Brasil, que incluiu indivíduos com MASLD comprovada por biópsia hepática. Para o cálculo dos escores Agile 3+ e Agile 4, e visando avaliar respectivamente a fibrose avançada (F≥3) e a cirrose (F4), foi aplicada a fórmula proposta por Sanyal et al. **Resultados:** Foram incluídos 220 pacientes, a maioria mulheres (n=146; 66%) e com diabetes (n=136; 61,5%). A prevalência de fibrose avançada e cirrose foi de 21,82% (n=48) e 9,55% (n=21), respectivamente. Houve forte correlação entre o escore Agile 3+ (r=0,751) e o VCTE (r=0,729) com o estágio de FH avaliado por biópsia hepática, enquanto a correlação do Agile 4 foi moderada (r=0,535). No entanto, os escores Agile 3+ e Agile 4 demonstraram alta sensibilidade e especificidade (superiores a 80% em todos os casos) quando comparados à biópsia hepática. Além disso, houve significância na AUROC. **Conclusão:** Foi confirmada boa correlação dos escores Agile e da VCTE com os estágios de fibrose em indivíduos com MASLD. O escore Agile 4 classificou corretamente a presença cirrose de forma mais eficaz que o VCTE isoladamente, com uma menor zona indeterminada.

Palavras-chave: Elastografia; Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica; Fibrose avançada; Cirrose; Esteatose hepática.

ABSTRACT

Background: The prognosis of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) is related to the presence of liver fibrosis (LF). The Agile 3+ and Agile 4 scores are proposed as non-invasive methods to identify advanced LF and cirrhosis respectively, associating Vibration-Controlled Transient Elastography (VCTE) with clinical and laboratorial data. **Aim**: To evaluate the performance of Agile scores in the assessment of LF in MASLD patients. **Methods**: This is a cross-sectional multicentric study conducted at three hepatology outpatient units from tertiary reference hospitals from Brazil, that included individuals with biopsy-proven MASLD. To calculate the Agile 3+ and Agile 4 scores for the evaluation of advanced fibrosis (F≥3) and cirrhosis (F4), respectively, the formula proposed by Sanyal et al was applied. **Results**: 220 patients were included, mostly women (n=146; 66%) and with diabetes (n=136; 61.5%). The prevalence of advanced fibrosis and cirrhosis was 21.82% (n=48) and 9.55% (n=21) respectively. There was a strong correlation between Agile 3+ (r=0.751) and VCTE (r=0.729) with the LF stage evaluated by liver biopsy, while the correlation of Agile 4 was moderate (r=0.535). However, the Agile 3+ and Agile 4 scores have shown high sensitivity and specificity (higher than 80% in all cases) when compared to liver biopsy. Also, there was significance in the AUROC. **Conclusion**: Was confirmed a good correlation between the Agile scores and the VCTE with the stages of fibrosis in MASLD individuals. Agile 4 classified correctly the presence of cirrhosis better than VCTE solo, with a smaller indeterminate zone.

Keywords: Elastography; Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; Advanced fibrosis; Cirrhosis; Liver steatosis.

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

AAR - Razão AST/ALT (*AST/ALT ratio*, sigla em inglês)

ALT – Alanina aminotransferase

ARFI – Impulso de força de radiação acústica (*Acoustic radiation force impulse,* sigla em inglês)

AST – Aspartato aminotransferase

AUROC – Área sob a curva ROC

BT – Bilirrubina total

CHC - Carcinoma hepatocelular

CT – Colesterol total

DHGNA – Doença hepática gordurosa não-alcoólica

DM2 – Diabete *mellitus* tipo 2

E – Especificidade

EHNA – Esteato-hepatite não-alcoólica

FA – Fosfatase alcalina

FRCM - Fatores de risco cardiometabólicos

GGT – Gama-glutamiltransferase

HAS – Hipertensão arterial sistêmica

HbA1c – Hemoglobina glicada

HCV – Vírus da Hepatite C

HDL – Colesterol de alta densidade (*high cholesterol density,* sigla em inglês)

HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance

IC – Intervalo de confiança

IMC – Índice de massa corporal

LDL – Colesterol de baixa densidade (*low cholesterol density,* sigla em inglês)

LSM – Medida da rigidez hepática (*liver stifness mesurement,* sigla em inglês)

MAFLD – Doença hepática gordurosa metabólica (*metabolic associated fatty liver disease*, sigla em inglês)

MASH - Esteato-hepatite metabólica (*metabolic-associated steato-hepatitis,* sigla em inglês)

MASLD - Doença hepática esteatótica metabólica (*metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease,* sigla em inglês)

MetALD - Doença hepática esteatótica alcoólica e metabólica (*metabolic and alcoholic liver disease,* sigla em inglês)

MRE - Elastografia por ressonância magnética (*magnetic ressonance elastography,* sigla em inglês)

NAFLD - Doença hepática gordurosa não-alcoólica (*non-alcoholic fatty liver disease,* sigla em inglês)

NASH - Esteato-hepatite não-alcoólica (*non-alcoholic steato-hepatitis,* sigla em inglês)

NFS - NAFLD *Fibrosis Score*

PIIINP - Pró-peptídeo aminoterminal de pró-colágeno III]

RM – Ressonância magnética

S – Sensibilidade

SLD - Doença hepática esteatótica (*steatotic liver disease,* sigla em inglês)

SM – Síndrome metabólica

SWE – Elastografia por ondas de cisalhamento (*Shear-wave elastography,* sigla em inglês)

TC – Tomografia computadorizada

TIMP-1 - Inibidor tissular de metaloproteinase 1

TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa

TP – Tempo de protrombina

US – Ultrassonografia

VCTE – Elastografia Transitória Controlada por Vibração (*Vibration Controlled Transient Elastography,* sigla em inglês)

VPN – Valor preditivo negativo

VPP – Valor preditivo positivo

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 MAGNITUDE DO TEMA E EPIDEMIOLOGIA

A doença hepática esteatótica metabólica (MASLD), é o termo que vem sendo utilizado desde junho de 2023 para substituir a clássica denominação doença hepática gordurosa não-alcoólica (NAFLD) (1). A MASLD é a causa mais comum de doença hepática crônica e sua prevalência global é consideravelmente maior do que previamente estimado. Recentes meta-análises sugerem que 32 a 38% da população adulta mundial seja afetada (2,3). Entretanto, a prevalência estimada na América Latina é ainda maior, de 44,4%. Além disso, a expectativa é de crescimento desses números, estimando-se que a prevalência global da MASLD atinja 55,4% em 2040 (4).

A prevalência de MASLD aumenta diretamente com a idade, além de aumentar, também, diretamente com o aumento de peso, sendo mais prevalente em obesos do que em não obesos (5). Recente meta-análise demonstrou que indivíduos com sobrepeso ou obesidade são três vezes mais predispostos a desenvolver MASLD em relação àqueles com peso normal (6). No entanto, a MASLD também pode se desenvolver em cerca de 5% dos indivíduos com peso normal (7).

O aumento da prevalência da MASLD parece ocorrer em paralelo com o aumento do Diabete *mellitus* tipo 2 (DM2) e da obesidade, ambos importantes fatores de risco associados à MASLD. Meta-análise recente com 101.028 indivíduos com sobrepeso ou obesidade demonstrou prevalências de MASLD de 70% e 75%, respectivamente, enquanto o a prevalência de doença progressiva esteato-hepatite metabólica (MASH) foi 34% nessa população (8).

A MASLD é considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica (SM) e quanto mais fatores de risco cardiometabólicos (FRCM) presentes, maior é o risco de fibrose avançada e mortalidade (9).

1.2 DEFINIÇÃO

O primeiro termo esteato-hepatite não-alcoólica (NASH) foi primeiramente descrito em 1980 (10) e a terminologia de doença hepática gordurosa não-alcoólica (NAFLD) foi introduzida após, em 1986, mas pouco utilizado naquele período (11). No entanto, foi em 1999 que foram descritas as condições metabólicas associadas à NAFLD (hiperinsulinemia, resistência à insulina e hipertrigliceridemia) (12,13) e que o espectro clínico-patológico da NAFLD foi descrito (14). A NAFLD é definida pela presença de esteatose em > 5% dos hepatócitos e, para seu diagnóstico, é necessário excluir o uso diário de álcool > 20/30g para mulheres/homens respectivamente e a presença de outras doenças hepáticas (15,16).

Alguns anos depois, foi descrito o termo “Lean NAFLD”, ou seja, esteatose em pacientes com peso normal. O termo “Lean NAFLD” parece ser ainda associado à resistência insulínica, mas com menor prevalência de outros componentes da SM (17).

Embora cerca de 95% dos pacientes com NAFLD possuam alterações metabólicas clinicamente relevantes, os outros 5% possuem esteatose hepática sem nenhum FRCM (18). Assim, considerando a associação da NAFLD com os componentes da SM, em 2020 foi proposta uma mudança na nomenclatura para doença hepática gordurosa associada ao metabolismo (MAFLD), que requer para seu diagnóstico a presença de esteatose hepática e pelo menos um dos seguintes critérios: sobrepeso/obesidade, DM2 ou presença de dois ou mais FRCM (19). Uma meta-análise demonstrou que o conceito de MAFLD incluiu um maior número de indivíduos com dano hepático quando comparado ao conceito de NAFLD (20). No entanto, o conceito de MAFLD não exclui o uso de álcool, mesmo que abusivo, e pode levar à inclusão equivocada também de indivíduos que possuam ingestão de álcool significativa para causar doença hepática secundária a isso. Destaca-se que não existe dose segura de consumo de álcool, principalmente naqueles com outros fatores de risco associados (21). Inclusive, estudo de Younossi demostrou que o maior preditor de mortalidade em pacientes com MAFLD foi o álcool, enquanto na NAFLD foi a resistência insulínica (22).

Além disso, o uso do termo “gordurosa” foi considerado por muitos especialistas como estigmatizante, o que poderia dificultar a abordagem dessa condição junto aos pacientes (1).

Tendo em vista as limitações expostas acima, bem como a diversidade de etiologias que se manifestam com doença hepática esteatótica, em 2023 foi introduzida a nomenclatura mais atual de doença hepática esteatótica associada a disfunção metabólica, ou mais simplesmente, doença hepática esteatótica metabólica (do inglês – *metabolic associated steatotic liver disease* – MASLD)

(1). A MASLD compõe um dos braços do conceito mais amplo de doença hepática esteatótica (do inglês – steatotic liver disease - SLD) e requer, pelo menos, um FRCM. Ainda, a esteato-hepatite associada metabólica (MASH) é o novo termo utilizado para NASH. Destaca-se que na nova nomenclatura surge, também, o conceito de doença hepática esteatótica alcoólica e metabólica (do inglês - *metabolic and alcoholic liver disease* - MetALD), que inclui indivíduos que combinam FRCM com o uso de quantidades consideradas significativas álcool (140-350/210-420g/semana para mulheres/homens respectivamente), permitindo avaliar o impacto adicional desse último fator.

Comparando as definições anteriores de MAFLD e NAFLD, uma meta-análise com 17 estudos e 9.808.677 indivíduos demonstrou prevalência na população geral de MAFLD e NAFLD de 33% e 29,1%, respectivamente (20).

Na comparação de NAFLD com o atual conceito de MASLD, em 2024, uma revisão sistemática demonstrou que, embora 5% dos pacientes com NAFLD não preencham critérios para MASLD, houve alta concordância entre elas e praticamente desfechos idênticos, sugerindo que essas condições sejam basicamente idênticas (18).

1.3 HISTÓRIA NATURAL

A MASLD é uma doença hepática crônica com um espectro amplo de manifestações histológicas, que inicia com o acúmulo isolado de triglicerídeos nos hepatócitos, desenvolvendo a esteatose isolada. Quando há a presença de inflamação lobular ou portal e lesão hepatocitária (balonização) caracteriza-se a MASH. Eventualmente, no espectro da MASLD pode ocorrer o desenvolvimento de fibrose hepática, cirrose e/ou carcinoma hepatocelular (CHC) (23).

De acordo com estudos de seguimento de longo prazo (24,25,26), 12-40% dos indivíduos com esteatose isolada têm progressão para MASH em 8-13 anos. Dos pacientes com MASH e fibrose inicial, cerca de 15% têm progressão para cirrose nesse mesmo intervalo de tempo. Essa porcentagem aumenta para 25% em pacientes com fibrose avançada no início do acompanhamento. Além disso, 7% dos pacientes com cirrose compensada por MASLD desenvolvem CHC em 10 anos.

Recentemente foi evidenciada progressão de fibrose hepática não somente nos casos de MASH, mas também em pacientes com esteatose isolada, embora a progressão seja mais lenta nesse cenário sem esteato-hepatite. Conforme evidenciado em meta-análise, estima-se, em pacientes com esteatose isolada, uma progressão de um estágio de fibrose a cada 14 anos, enquanto que, para pacientes com MASH sem fibrose no momento inicial, essa mesma progressão ocorra num período mais curto de 7 anos (27,28,29),

Nos pacientes com MASLD, a presença de fibrose hepática é o fator prognóstico que melhor se correlaciona com mortalidade global, transplante hepático e eventos relacionados ao fígado (30,31). Dessa maneira, considerando o estágio de fibrose ser o principal determinante para mortalidade relacionada ao fígado, sua adequada avaliação é primordial para o manejo otimizado do paciente com MASLD (32).

1.4 DIAGNÓSTICO E CLASSIFICAÇÕES

1.4.1 AVALIAÇÃO INVASIVA DE FIBROSE HEPÁTICA

A biopsia hepática é um método necessário para o diagnóstico de MASH e sua diferenciação de esteatose isolada (15). No entanto, embora seja o padrão-ouro, é um método com limitações, como aceitabilidade reduzida, variabilidade intraobservador e interobservador, variabilidade amostral e alto custo. Além disso, embora seguro, é um método invasivo, associado a potenciais efeitos adversos, como dor, sangramento e infecção (1).

1.4.2 AVALIAÇÃO NÃO-INVASIVA DE FIBROSE HEPÁTICA

Os métodos não invasivos para avaliação de fibrose hepática têm ganhado destaque na abordagem da MASLD, sendo alternativas seguras e eficazes à biopsia hepática. Dentre as principais ferramentas estão os exames de imagem, como a elastografia hepática transitória (VCTE), a elastografia por ressonância magnética (MRE) e a elastografia por ultrassom de ondas de cisalhamento – do inglês, *shear-wave elastography* (SWE), e os escores clínicos baseados em parâmetros laboratoriais, como o FIB-4, NAFLD *Fibrosis Score* (NFS) e APRI. Tais métodos são amplamente utilizados na prática clínica para triagem e estratificação do risco de fibrose avançada, além de possibilitarem a monitorização sequencial da progressão da doença, com menor custo, maior acessibilidade e sem os riscos inerentes aos procedimentos invasivos.

A avaliação adequada da presença de de fibrose hepática significativa, é importante pelo seu valor prognóstico no curso da MASLD, bem como para orientar estratégias de tratamento e monitorar seus resultados. A abordagem de avaliação recomendada até o momento consiste na realização de escore laboratorial (principalmente o FIB-4), seguido pela elastografia hepática quando houver necessidade. Se a pontuação FIB-4 for >1,3, um segundo teste é recomendado, sendo o mais indicado a elastografia hepática. A combinação sequencial de testes, com menores pontos de corte para excluir fibrose avançada e maiores pontos de corte para confirmar cirrose podem, inclusive, reduzir a necessidade de biopsias hepáticas (33). Vale ressaltar que ponto de corte mais alto para o FIB-4, 2,0 (em vez de >1,3), foi recomendado para pacientes com idade avançada (>65 anos) para determinar fibrose avançada, a fim de reduzir um resultado superestimado pela idade. A combinação ou uso sequencial de testes não-invasivos produz um valor preditivo positivo mais alto na identificação de indivíduos com MASLD e fibrose avançada (1).

1.4.2.1 TESTES BIOQUÍMICOS NÃO-COMERCIAIS

O uso de testes bioquímicos na avaliação inicial de fibrose hepática no contexto de MASLD é recomendado. O teste inicial de preferência é o índice de fibrose-4 (FIB-4), que é o mais validado para este fim, inclusive na população da América Latina (34). Isso ocorre porque os níveis plasmáticos de aminotransferases podem ser normais em diversos casos de MASLD, portanto não devem ser utilizados de forma isolada para o diagnóstico de fibrose avançada (1).

O índice FIB-4, calculado como: [idade (anos) × AST (UI/L)] / [plaquetas (10^9/L) × ALT (UI/L)], foi proposto inicialmente como um parâmetro da progressão da fibrose em pacientes coinfectados com o vírus da imunodeficiência humana e vírus da hepatite C, mas foi posteriormente validado nos pacientes com MASLD, com valor preditivo negativo (VPN) de 90%, sugerindo que este índice pode ser útil em excluir pacientes com fibrose avançada. (35). Atualmente é o método mais utilizado como avaliação inicial de fibrose hepática em pacientes com esteatose hepática, com capacidade adequada de afastar a presença de fibrose hepática significativa, inclusive na população brasileira (36).

O escore APRI, para avaliação de fibrose avançada, é calculado a partir da relação aspartato aminotransferase (AST) sobre plaquetas. Inicialmente foi proposto para ser utilizado em pacientes com hepatite crônica pelo vírus da hepatite C (HCV), mas foi validado para pacientes com MASLD. Apresenta um VPN de 93%, mostrando que este escore pode ser usado para identificar aqueles pacientes que não tem fibrose avançada (37).

O NFS foi desenhado por Angulo et al., sendo específico para avaliar fibrose hepática no contexto de MASLD. O cálculo está disponível na internet: http://nafldscore.com. Utilizando valores abaixo do menor (-1,455) ou acima do maior (0,676) ponto de corte, foi capaz de predizer ausência ou presença de fibrose avançada respectivamente em 549 (75%) dos 733 pacientes avaliados, sendo possível evitar a realização de biópsia hepática na maioria dos pacientes (38). Ressalta-se que o NFS pode superestimar, no ambiente de atenção primária, a prevalência de fibrose avançada em pessoas com obesidade, e, em particular, com DM2; portanto, deve ser evitado neste cenário (1).

1.4.2.2 TESTES BIOQUÍMICOS COMERCIAIS

Escores bioquímicos de uso comercial foram descritos também na tentativa de identificar de maneira não-invasiva quais pacientes apresentam fibrose avançada.

O *Enhanced Liver Fibrosis* (ELF™) é composto pela combinação da medida de três moléculas presentes na matriz celular hepática: ácido hialurônico, pró-peptídeo aminoterminal de pró-colágeno III (PIIINP) e inibidor tissular de metaloproteinase 1 (TIMP-1). Proposto em 2004 por Rosenberg et al (39), apresenta área sob a curva ROC (AUROC) de 0,9 com sensibilidade de 80% e especificidade de 90% para detecção de fibrose. Seu uso rotineiro em pacientes com MASLD é sugerido na Europa, com um ponto de corte ≥10,51 (40).

O FibroMeter™ NAFLD Score, desenvolvido na França, utiliza-se do peso do paciente e dosagem sérica de plaquetas, ALT, AST, ferritina e glicemia para avaliar o grau de fibrose hepática na MASLD. Estudos evidenciam um desempenho robusto na identificação de fibrose significativa (AUROC 0,94) ou avançada (AUROC 0,93). Quando comparado ao NFS, demonstrou maior acurácia na identificação de fibrose significativa, mas não na detecção de fibrose avançada e cirrose (41,42).

O *FibroTest®* é um algoritmo comercial validado para avaliação de fibrose hepática nas principais causas de hepatopatia crônica, com acurácia em torno de 84%. Utiliza-se das dosagens séricas de α2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteina A1, GGT, BT e ALT. Os resultados desse escore variam de 0 a 1, estando este valor correlacionado positivamente com o grau de fibrose (43).

Em nosso meio, o teste Fibromax™, teste patenteado que utiliza marcadores inflamatórios séricos para estimar esteatose isolada, esteato-hepatite e fibrose hepática, foi testado e não apresentou acurácia satisfatória para que fosse implementado na prática clínica (44).

Outro algoritmo amplamente conhecido, o Hepascore® analisa exames laboratoriais (bilirrubina, GGT, α2-macroglobulina e ácido hialurônico), idade e sexo. Este algoritmo pode variar de 0,0 a 1,0. Valores ≥0,5 indicam fibrose significativa e ≥0,84 sugerem cirrose em pacientes portadores de HCV, com sensibilidade de 95% e 71%, respectivamente. Apesar do bom desempenho no diagnóstico de fibrose em pacientes com hepatite C crônica, quando estudado em pacientes com MASLD apresenta melhor desempenho na exclusão da fibrose avançada, com VPN de 92,4% para fibrose F3-4 e 98,5% para cirrose, com pontos de corte 0,37 e 0,7, respectivamente (45,46).

Outro teste proposto, o HEPAmet *Score®*, foi validado em 2019 por Ampuero et al para diagnósitico de, e utiliza as variáveis idade, sexo, presença de diabetes, HOMA-IR, AST, albumina e contagem de plaquetas. Pontos de corte de < 0,12 e ≥ 0,47 identificaram pacientes com e sem fibrose avançada com especificidade (E) de 97,2% e sensibilidade (S) de 74%, VPN de 92% e valor preditivo positivo (VPP) de 76,3%. Este escore não é afetado pelo IMC, aumento de aminotransferases e presença de DM2. O HEPAmet *Score* apresenta melhor acurácia em relação ao FIB-4 e NFS no diagnóstico de fibrose avançada, reduzindo o número de pacientes com escores indeterminados de 30% para 20% e, assim, diminuindo a necessidade de biópsia hepática (47).

1.4.2.3 MÉTODOS DE IMAGEM

Diversos métodos de imagem, como a ultrassonografia (US), a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM), têm sido utilizados para a detecção não-invasiva de alterações hepáticas em pacientes com MASLD. Tais imagens apresentam boa acurácia na detecção de cirrose com hipertensão portal. Entretanto, são pouco adequadas para detectar MASH e os diferentes estágios de fibrose. Por conta dessa limitação, outros métodos de imagem como a VCTE, a SWE e a MRE são promissores na determinação da severidade da fibrose associada à MASLD (36,48).

A VCTE é o método mais validado para identificar doença avançada e prever desfechos na atualidade. Abordagens alternativas de imagem podem ser consideradas, incluindo SWE e/ou MRE (1)

A VCTE é uma técnica é rápida, barata, reprodutível e que não determina desconforto ou riscos ao paciente. Pode ser realizado utilizando-se probes S (população pediátrica: frequência 5.0 MHz e profundidade 1,5-5,0cm a partir da superfície corporal), M (frequência 3.5 MHz e profundidade 2,5-6,5cm) ou XL (população com obesidade: frequência 5.0 MHz e profundidade 1,5-5,0cm a partir da superfície corporal) (49). A VCTE mede a rigidez de um cilindro de tecido hepático de 1cm de diâmetro e de 5cm de comprimento, o que representa cerca de 100 vezes mais do que seria avaliado em uma punção-biópsia hepática. Essa característica proporciona uma importante vantagem da elastografia em relação à biópsia: o estadiamento é realizado de maneira mais representativa do fígado como um todo. Uma das limitações do método consiste na menor acurácia do método em pacientes obesos, mesmo que utilizado o um probe XL (50).

Duas meta-análises (51,52) avaliaram os resultados do método no estadiamento da fibrose. Em uma delas, a acurácia da VCTE é de 84% para fibrose significativa (F2-4), 89% para fibrose avançada (F3-4) e 94% para cirrose (F4); na outra, a sensibilidade e a especificidade da ferramenta para o diagnóstico de cirrose foram de 87% e 91%, e, para fibrose significativa F2-4, foram de 70% e de 84% respectivamente. A VCTE em pacientes com MASLD foi avaliada em alguns estudos, demonstrando alto VPN e modesto VPP, sendo útil para excluir fibrose avançada (53). O papel da VCTE em excluir cirrose é corroborado em estudos subsequentes, que demonstram um VPN para cirrose de 96%, porém com desempenho inferior para graus intermediários de fibrose (54,55,56,57)

Atualmente, a VCTE é sugerida como o mais indicado dentre os métodos não invasivos de avaliação de fibrose hepática (58). Em nosso meio, quando avaliados 104 pacientes com MASLD avaliados por biópsia hepática, a VCTE apresentou melhor desempenho no estadiamento de fibrose em relação a escores não invasivos de fibrose (59).

Os métodos de elastografia SWE, point-SWE (p-SWE) e 2D-SWE, assim como a VCTE, medem a velocidade de propagação da onda no parênquima hepático. No entanto, enquanto o estímulo para a propagação da onda é mecânico na VCTE, o mesmo é interno na SWE, gerado por feixes ecográficos (60).

Dados de estudo retrospectivo com 577 pacientes (61), comparando 2D-SWE e VCTE como segunda etapa (pós-FIB4) para detectar FA, não demonstraram diferença significativa entre FIB-4/2D-SWE e FIB-4/VCTE, que foram comparáveis (S 71,4% e 66%; E 91,4% e 91,5%; e acurácia 83,7% e 81,4%; com *P* = não significativo).

A MRE pode ser realizada em pacientes obesos ou pacientes com ascite, com acurácia superior à VCTE nesses cenários (62,63). A MRE consegue diagnosticar graus precoces de fibrose com boa acurácia e excelente concordância interobservador (64). Dentre as limitações da MRE, destacam-se sua limitada disponibilidade, e possíveis falhas na avaliação em casos de maior deposição de ferro hepático (65). Revisão sistemática e meta-análise demonstrou sensibilidade e especificidade adequadas da MRE para investigação de FA e cirrose em pacientes com MASLD, com AUROC > 0,90 (66).

Métodos de avaliação de fibrose hepática que combinam a avaliação física do parênquima, como a VCTE, com parâmetros bioquímicos vêm sendo desenvolvidos, também na tentativa de melhorar a acurácia do diagnóstico de fibrose significativa, avançada ou cirrose. Um exemplo é o FAST score (67), desenhado para avaliar o composto de NASH + NAS$\geq$4 + F$\geq$2, que utiliza valor de AST, CAP e LSM. Na população brasileira (68), o escore FAST demonstrou boa acurácia, mesmo em pacientes com maior IMC (em que o probe XL foi utilizado), podendo ser utilizado como ferramenta para excluir NASH progressiva e evitar biopsias desnecessárias.

1.4.2.4 ESCORES AGILE 3+ E AGILE 4

Considerando as limitações dos testes não-invasivos na avaliação da fibrose hepática, em especial a quantidade de resultados indeterminados que não afastam nem confirmam fibrose avançada e cirrose, os escores Agile 3+ e Agile 4 foram propostos recentemente com objetivo de aprimorar a identificação de indivíduos com fibrose avançada (F≥3) e cirrose (F4), respectivamente (69,70).

Para o cálculo de ambos escores, é realizada uma combinação do resultado da medida da rigidez hepática por VCTE (LSM) com dados clínicos e laboratoriais: idade (somente no escore Agile 3+), status de DM2, sexo, plaquetas e razão AST/ALT (AAR) (69,70). Os resultados, oriundos de fórmulas logarítmicas, variam de 0 a 1 e podem ser interpretados de maneira probabilística, com resultados mais próximos de 0 afastando e resultados mais próximos de 1 favorecendo a presença de fibrose avançada (Agile 3+) ou de cirrose (Agile 4). Tal como outros métodos não-invasivos, os escores Agile 3+ e Agile 4 demonstram adequados valores VPN e limitados VPP, com AUROC >0,80 tanto nas coortes de validação interna quanto externa.

2. JUSTIFICATIVA

A MASLD tem se tornando um desafio na saúde pública, à medida que a prevalência da obesidade e sobrepeso vem aumentando em níveis endêmicos.

O desenvolvimento de modalidades não-invasivas precisas, seguras e facilmente acessíveis para diagnosticar e monitorar com precisão a fibrose hepática é de extrema importância na prática e na pesquisa clínica. Assim, marcadores não-invasivos acessíveis e não-invasivos que possam ser úteis no diagnóstico e prognóstico da MASLD têm sido amplamente estudados. Esses testes são importantes não apenas para estratificar os pacientes com maior risco de doença hepática progressiva, mas também para controlar a reposta ao tratamento e servir como desfecho substituto apropriado para ensaios clínicos sobre MASLD.

Portanto, frente às limitações atuais das modalidades não-invasivas na avaliação da MASLD (métodos bioquímicos e de elastografia hepática), o presente estudo se justifica pela necessidade de aprimorar a acurácia no diagnóstico de fibrose avançada e cirrose com os testes não-invasivos, diminuir seus resultados intermediários que geram dúvida diagnóstica e evitar os riscos relacionados à realização de biópsia hepática.

Nesse cenário, os escores Agile 3+ e Agile 4, que combinam VCTE com dados clínicos e laboratoriais para identificação de fibrose avançada e cirrose respectivamente, incluíram no seu desenvolvimento, validação interna e externa, coortes de pacientes oriundos da Europa, América do Norte e da Ásia (69,70). Por esse motivo, o presente trabalho se justifica por ser o primeiro estudo validando tais escores em população da América do Sul.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal é avaliar o desempenho dos escores Agile 3+ e Agile 4 no diagnóstico dos diferentes estágios de fibrose em pacientes com MASLD em comparação com a histologia hepática.

3.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO

Como objetivo secundário, avaliar o desempenho dos escores Agile 3+ e Agile 4 no diagnóstico dos diferentes estágios de fibrose em pacientes com MASLD, em comparação com a elastografia hepática transitória quando utilizada de forma isolada.

4. REFERÊNCIAS

1. Rinella ME, Lazarus JV, Ratziu V, Francque SM, Sanyal AJ, Kanwal F, et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. J Hepatol. 2023;79(6):1542–56.
2. Younossi ZM, Golabi P, Paik JM, Henry A, Van Dongen C, Henry L. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review. Hepatology. 2023;77(4):1335–47.
3. Riazi K, Azhari H, Charette JH, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2022;7(9):851–61.
4. Le MH, Yeo YH, Zou B, Barnet S, Henry L, Cheung R, et al. Forecasted 2040 global prevalence of nonalcoholic fatty liver disease using hierarchical Bayesian approach. Clin Mol Hepatol. 2022;28:841–50.
5. Lee EJ, Choi M, Ahn SB, Yoo JJ, Kang SH, Cho Y, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in pediatrics and adolescents: a systematic review and meta-analysis. World J Pediatr. 2024.
6. Le MH, Le DM, Baez TC, Wu Y, Ito T, Lee EY, et al. Global incidence of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis of 63 studies and 1,201,807 persons. J Hepatol. 2023;79:287–95.
7. Ye Q, Zou B, Yeo YH, Li J, Huang DQ, Wu Y, et al. Global prevalence, incidence, and outcomes of non-obese or lean non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020;5:739–52.
8. Quek J, Chan KE, Wong ZY, Tan C, Tan B, Lim WH, et al. Global prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in the overweight and obese population: a systematic review and meta-analysis. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2023;8(1):20–30.
9. Golabi P, Otgonsuren M, de Avila L, Sayiner M, Rafiq N, Younossi ZM. Components of metabolic syndrome increase the risk of mortality in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Medicine (Baltimore). 2018;97(13):e0214.

10. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc. 1980;55:434–8.
11. Schaffner F, Thaler H. Nonalcoholic fatty liver disease. Prog Liver Dis. 1986;8:283–98.
12. Cortez-Pinto H, Camilo ME, Baptista A, De Oliveira AG, De Moura MC. Non-alcoholic fatty liver: another feature of the metabolic syndrome? Clin Nutr. 1999;18:353–8.
13. Lonardo A. Fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis. Where do we stand and where are we going? Dig Dis. 1999;17:80–9.
14. 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(6):1413–9.
15. European Association for the Study of the Liver (EASL), et al. EASL–EASD–EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2016;64:1388–402.
16. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the AASLD. Hepatology. 2018;67(1):328–57.
17. Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, et al. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population of Taiwan. J Clin Gastroenterol. 2006;40(8):745–52.
18. Younossi ZM, Paik JM, Stepanova M, Ong J, Alqahtani S, Henry L. Clinical profiles and mortality rates are similar for MASLD and NAFLD. J Hepatol. 2024.
19. Eslam M, Sanyal AJ, George J. MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease. Gastroenterology. 2020.
20. Ayada I, van Kleef LA, Alferink LJM, Li P, de Knegt RJ, Pan Q. Systematically comparing epidemiological and clinical features of MAFLD and NAFLD by meta-analysis. Liver Int. 2022;42:277–87.
21. GBD 2016 Alcohol Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis. Lancet. 2018;392:1015–35.

22. Younossi ZM, Paik JM, Al Shabeeb R, Golabi P, Younossi I, Henry L. Are there outcome differences between NAFLD and metabolic-associated fatty liver disease?. *Hepatology*. 2022;76(5):1423-1437.
23. Diehl AM, Day C. Cause, pathogenesis, and treatment of nonalcoholic steatohepatitis. N Engl J Med. 2017;377:2063–72.
24. Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. Hepatology. 2006;44:865–73.
25. Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T, et al. Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. Clin Gastroenterol Hepatol. 2009;7:234–8.
26. Le P, Payne JY, Zhang L, Deshpande A, Rothberg MB, Alkhouri N, et al. Disease state transition probabilities across the spectrum of NAFLD. Clin Gastroenterol Hepatol. 2023;21:1154–68.
27. Lekakis V, Papatheodoridis GV. Natural history of MASLD. Eur J Intern Med. 2024;122:3–10.
28. Wakabayashi SI, Tamaki N, Kimura T, Umemura T, Kurosaki M, Izumi N. Natural history of lean and non-lean MASLD. J Gastroenterol. 2024;59(6):494–503.
29. Dulai PS, Singh S, Patel J, Soni M, Prokop LJ, Younossi Z, et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in NAFLD: systematic review and meta-analysis. Hepatology. 2017;65(5):1557–65.
30. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with NAFLD. Gastroenterology. 2015;149(2):389–97.e10.
31. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. Hepatology. 2015;61(5):1547–54.
32. Heyens LJM, Busschots D, Koek GH, Robaeys G, Francque S. Liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease: from liver biopsy to non-invasive biomarkers in diagnosis and treatment. Front Med (Lausanne). 2021;8:615978.

33. Mózes FE, Lee JA, Selvaraj EA, et al. Diagnostic accuracy of non-invasive tests for advanced fibrosis in patients with NAFLD: an individual patient data meta-analysis. Gut. 2022;71(5):1006–19.
34. Diaz LA, Arab JP, Idalsoaga F, et al. Updated recommendations for the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) by the Latin American working group. Ann Hepatol. 2025;35:101903.
35. Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ, Sanyal AJ. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Clin Gastroenterol Hepatol. 2009;7(10):1104–12.
36. Moreira RO, Valerio CM, Villela-Nogueira CA, et al. Brazilian evidence-based guideline for screening, diagnosis, treatment, and follow-up of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) in adult individuals with overweight or obesity: a joint position statement from the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM), Brazilian Society of Hepatology (SBH), and Brazilian Association for the Study of Obesity and Metabolic Syndrome (Abeso). Arch Endocrinol Metab. 2023;67(6):e230123.
37. Kruger FC, Daniels CR, Kidd M, Swart G, Brundyn K, van Rensburg C, et al. APRI: a simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH. S Afr Med J. 2011;101(6):477–80.
38. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. Hepatology. 2007;45(4):846–54.
39. Rosenberg WMC, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. Gastroenterology. 2004;127(6):1704–13.
40. Glen J, Floros L, Day C, Pryke R. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): summary of NICE guidance. BMJ. 2016;354:i4913.
41. Vilar-Gomez E, Chalasani N. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical prediction rules and blood-based biomarkers. J Hepatol. 2018;68(2):305–15. doi:10.1016/j.jhep.2017.11.013.
42. Calès P, Boursier J, Chaigneau J, Lainé F, Sandrini J, Michalak S, et al. Diagnosis of different liver fibrosis characteristics by blood tests in non-alcoholic fatty liver disease. Liver Int. 2010;30(9):1346–54.

43. Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratziu V, Imbert-Bismut F, et al. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. BMC Gastroenterol. 2007;7:1–11. doi:10.1186/1471-230X-7-40.
44. Lardi LL, Lul RM, Port GZ, et al. Fibromax and inflamatory markers cannot replace liver biopsy in the evaluation of non-alcoholic fatty liver disease. *Minerva Gastroenterol (Torino)*. 2022;68(1):85-90.
45. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, et al. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. Clin Chem. 2005;51(10):1867–73.
46. Adams LA, George J, Bugianesi E, Rossi E, De Boer WB, van der Poorten D, et al. Complex non-invasive fibrosis models are more accurate than simple models in non-alcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol Hepatol. 2011;26(10):1536–43.
47. Ampuero J, Pais R, Aller R, Gallego-Durán R, Crespo J, García-Monzón C, et al. Development and validation of Hepamet fibrosis scoring system: a simple, noninvasive test to identify patients with nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2019;17(9):e1–10.
48. Hu KC, Wang HY, Liu SC, Liu CC, Hung CL, Bair MJ, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: updates in noninvasive diagnosis and correlation with cardiovascular disease. World J Gastroenterol. 2014;20(24):7718–29.
49. Ferraioli G, Wong VW, Castera L, Berzigotti A, Sporea I, Dietrich CF, et al. Liver ultrasound elastography: an update to the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology guidelines and recommendations. Ultrasound Med Biol. 2018;44(12):2419–40.
50. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, et al. Liver stiffness measurement using XL probe in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Am J Gastroenterol. 2012;107(12):1862–71.
51. Talwalker JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ, et al. Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2007;5(10):1214–20.
52. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. Gastroenterology. 2008;134(4):960–74.

53. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2010;51(2):454–62.
54. Degos F, Perez P, Roche B, Mahmoudi A, Asselineau J, Voitot H, et al. Diagnostic accuracy of FibroScan and comparison to liver fibrosis biomarkers in chronic viral hepatitis: a multicenter prospective study (the FIBROSTIC study). J Hepatol. 2010;53(6):1013–21.
55. Tsochatzis EA, Gurusamy KS, Ntaoula S, Cholongitas E, Davidson BR, Burroughs AK. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. J Hepatol. 2011;54(4):650–9.
56. Ganne-Carrié N, Ziol M, de Lédinghen V, Douvin C, Marcellin P, Castera L, et al. Accuracy of liver stiffness measurement for the diagnosis of cirrhosis in patients with chronic liver diseases. Hepatology. 2006;44(6):1511–7.
57. Kaswala DH, Lai M, Afdhal NH. Fibrosis assessment in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in 2016. Dig Dis Sci. 2016;61(5):1356–64.
58. Kumar R, Rastogi A, Sharma MK, Bhatia V, Tyagi P, Sharma P, et al. Liver stiffness measurements in patients with different stages of nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic performance and clinicopathological correlation. Dig Dis Sci. 2013;58(1):265–74.
59. Tovo CV, Fernandes SA, Buss C, de Mattos AA. Transient hepatic elastography has the best performance to evaluate liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Ann Hepatol. 2019;18(2):222–8.
60. Villani R, Lupo P, Sangineto M, Romano AD, Serviddio G. Liver ultrasound elastography in non-alcoholic fatty liver disease: a state-of-the-art summary. Diagnostics (Basel). 2023;13(7):1236.
61. Cassinotto C, Boursier J, Paisant A, Guiu B, Irles-Depe M, Canivet C, et al. Transient versus two-dimensional shear-wave elastography in a multistep strategy to detect advanced fibrosis in NAFLD. Hepatology. 2021;73(6):2196–205.
62. Imajo K, Kessoku T, Honda Y, Tomeno W, Ogawa Y, Mawatari H, et al. Magnetic resonance imaging more accurately classifies steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease than transient elastography. Gastroenterology. 2016;150(3):626–37.e7.

63. Park CC, Nguyen P, Hernandez C, Bettencourt R, Ramirez K, Fortney L, et al. Magnetic resonance elastography vs transient elastography in detection of fibrosis and noninvasive measurement of steatosis in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology. 2017;152(3):598–607.e2.
64. Runge JH, Bohte AE, Verheij J, Nederveen AJ, Stoker J, Reeder SB, et al. Comparison of interobserver agreement of magnetic resonance elastography with histopathological staging of liver fibrosis. Abdom Imaging. 2014;39(2):283–90.
65. Horowitz JM, Venkatesh SK, Ehman RL, Silva AC, Bercu ZL, Motosugi U, et al. Evaluation of hepatic fibrosis: a review from the Society of Abdominal Radiology Disease Focus Panel. Abdom Radiol (NY). 2017;42(8):2037–53.
66. Selvaraj EA, Mózes FE, Jayaswal ANA, Mora NP, Gao Y, Kuo J, et al. Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: a systematic review and meta-analysis. J Hepatol. 2021;75(4):770–85.
67. Newsome PN, Sasso M, Deeks JJ, et al. FibroScan-AST (FAST) score for the non-invasive identification of patients with non-alcoholic steatohepatitis with significant activity and fibrosis: a prospective derivation and global validation study [published correction appears in Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020 Apr;5(4):e3. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30055-8.]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(4):362-373. doi:10.1016/S2468-1253(19)30383-8
68. Cardoso AC, Tovo CV, Leite NC, et al. Validation and Performance of FibroScan®-AST (FAST) Score on a Brazilian Population with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*. 2022;67(11):5272-5279. doi:10.1007/s10620-021-07363-x
69. Sanyal AJ, Foucquier J, Younossi ZM, Harrison SA, Francque SM, Ratziu V, et al. Enhanced diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis in individuals with NAFLD using FibroScan-based Agile scores. J Hepatol. 2023;78(2):247–59.
70. Younossi Z, Harrison SA, Sanyal AJ, on behalf of the NASH Clinical Research Network, NIDDK, NIH. Development and validation of Agile 3+: novel FibroScan-based score for the diagnosis of advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2021;75(2):257.

5. ARTIGO

(Elaborado segundo as normas da revista European Journal of Gastroenterology and Hepatology, revista na qual o artigo foi aceito para publicação)

Name of Journal: *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*

Type: ORIGINAL ARTICLE - *Observational Study*

Full title: **Agile 3+ and Agile 4 scores are accurate to detect advanced metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease**

Short title: **Agile 3+ and Agile 4 scores accuracy**

Authorship: Muriel Manica, Luis F Ferreira, Cristiane A Villela-Nogueira, Edison R Parise, Nathalie C Leite, Ana C F Cardoso, Ana L F de Azevedo, Nilma L S Ruffeil, Cristiane V Tovo.

Supported by: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

Conflict of interest: The authors declare not have conflict of interest of any kind for the realization of this study.

ABSTRACT

Background: The prognosis of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) is related to the presence of liver fibrosis (LF). The Agile 3+ and Agile 4 scores are proposed as non-invasive methods to identify advanced LF and cirrhosis respectively, associating VCTE with clinical and laboratorial data. **Aim**: To evaluate the performance of Agile scores in the assessment of LF in MASLD patients. **Methods**: This is a cross-sectional multicentric study conducted at three Gastroenterology/ Hepatology outpatient units from Brazil, including individuals with biopsy-proven MASLD. To calculate the Agile 3+ and Agile 4 scores for the evaluation of advanced fibrosis ($F \geq 3$) and cirrhosis (F4), respectively, the formula proposed by Sanyal et al was applied. **Results**: 220 patients were included, mostly women (n=146; 66%) and with diabetes (n=136; 61.5%). The prevalence of advanced fibrosis and cirrhosis was 21.82% (n=48) and 9.55% (n=21) respectively. There was a strong correlation between Agile 3+ (r=0.751) and VCTE (r=0.729) with the LF stage evaluated by liver biopsy, while the correlation of Agile 4 was moderate (r=0.535). However, the Agile 3+ and Agile 4 scores have shown high sensitivity and specificity (higher than 80% in all cases) when compared to liver biopsy. Also, there was significance in the AUROC, which was inferior than 0.5 for all cases. **Conclusion**: Was confirmed good correlation between the Agile scores and VCTE with the stages of fibrosis in MASLD individuals, classifying correctly the presence of LF and cirrhosis better than VCTE solo, with a smaller indeterminate zone.

Keywords: Elastography; Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; Advanced fibrosis; Cirrhosis; Liver steatosis.

INTRODUCTION

Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD)[1] is the most prevalent cause of chronic liver disease in the western, with a world prevalence estimated in 25%[2]. The prognosis of MASLD is related to the presence of liver fibrosis, with an important raise in mortality in those with advanced liver fibrosis (AF)[3,4].

Although liver biopsy (LB) is the current gold standard for the staging of liver fibrosis (LF), it must be postulated that it is an invasive procedure, with risk of complications as bleeding, and morbimortality that is not negligible, besides the insufficient sample and variability of interpretation between the observers may occur[3,5]. In this context, many non-invasive methods have been developed and tested to predict LF, although with many limitations. The Vibration-Controlled Transient Elastography (VCTE), evaluating the liver stiffness measurements (LSM), is the most promising method and has been widely validated[6,7]. The Agile 3+ and Agile 4 scores has been recently proposed to identify advanced LF and cirrhosis respectively, associating VCTE with clinical and laboratorial data[8,9].

This multicentric study aimed to compare the performance of Agile 3+ and Agile 4 scores with VCTE solo in the assessment of LF in patients with MASLD, comparing to LB as a gold standard.

MATERIAL AND METHODS

This is a cross-sectional multicentric study with prospective inclusion conducted at the outpatient units from three Gastroenterology/Hepatology Services in Brazil: the Clementino Fraga Filho University Hospital (Federal University of Rio de Janeiro - UFRJ), the São Paulo University Hospital (Federal University of São Paulo - UNIFESP) and the Santa Casa de Misericordia de Porto Alegre (Federal University of Health Sciences of Porto Alegre – UFCSPA), all reference tertiary hospitals.

All individuals with at least 18 years old, with biopsy-proven MASLD, attended in the cited services in the last 10 years, were included. Those with other concomitant liver disease etiologies and/or with insufficient data in the medical records were excluded.

MASLD was defined according the new classification endorsed by the American Association for The Study of Liver Diseases (AASLD), The European Association for the Study of the Liver (EASL) and the Associación Lationoamericana Para el Estudio del Higado (ALEH)[1].

The data collected from the medical records were demographic (sex, age, weight, height, diabetes mellitus status), biochemical (platelets, total bilirubin - TB, alanine - ALT and aspartate - AST aminotransferases, total and low-density lipoprotein - LDL cholesterol, triglycerides), and data regarding LB and VCTE.

The body mass index (BMI) was calculated according Nuttal et al[10], by dividing weight (in kilograms) by square height (in meters). The weight was assessed in a scale with precision of 0.1 kg (Filizola, São Paulo, Brazil), and the stature in a stadiometer with a precision of 0.01 m (Cescorf, Porto Alegre, Brazil), with the patient standing, barefoot, and wearing the least clothes.

For the liver histopathology, percutaneous LB was performed guided by ultrasound, with 16-gauge needles. Experienced physicians obtained the fragments according to standard procedures[11]. A single experienced liver pathologist in each of the different centers, blinded to the study data, evaluated the LB specimens. The NASH CRN Scoring system was applied to define steatosis, the presence of ballooning, lobular inflammation grades, NAFLD activity score (NAS) and fibrosis stage[12]. All included samples had at least 15 mm of length and at least 10 portal tracts.

Liver stiffness measurement was performed with FibroScan 502 touch (Echosens, Paris, France), using M or XL probes according to BMI (M probe was used in patients with BMI < 32 kg/m²), as proposed in the reference study[13]. A 4-hour fast was required to perform the examination. The FibroScan technique was previously described[14,15]. The final median is expressed in KiloPascal (kPa). Examinations with at least ten valid measurements, IQR/median liver stiffness ratio < 30% and success rate > 60%, were included in the analysis[16]. FibroScan were performed by a physician blinded to patients' clinical and LB data.

Individuals included in the study were submitted to clinical and laboratory evaluation, LSM using VCTE and LB with a maximum interval between all the procedures of 2 weeks, according to FAST study recommendations[13].

To calculate the Agile 3+, for the evaluation of advanced fibrosis ($F \geq 3$), the formula proposed by Sanyal et al[8] was applied, as follows:

$$Agile\ 3+ = \frac{e^{logit\ (p_{F \geq 3})}}{1+e^{logit\ (p_{F \geq 3})}}$$

Where: logit (pF>3) = - 3.92368 + 2.29714 x normal logarithm (transient elastography) – 0.00902 x platelets – 0.98633 x ALT/AST Ratio-1 + 1.08636 x diabetes status – 0.38581 x sex + 0.03018 x age.

To calculate the Agile 4, for the evaluation of cirrhosis (F4), the formula proposed by Sanyal et al[8] was applied, as follows:

$$Agile\ 4 = \frac{e^{logit\ (p_{F=4})}}{1+e^{logit\ (p_{F=4})}}$$

Where: logit (pF=4) = 7.50139 - 15.42498 x - 0.01378 x platelets – 1.41149 x ALT/AST Ratio-1 – 0.53281 x sex + 0.41741 x diabetes status

Both Agile 3+ and Agile 4 are predicted probability from the logistic regression model, the results vary between 0 and 1 and can be interpreted in probabilistic way.

The project was approved at Research Ethics Comitee from Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA) (coordinator center), under approval letter number 982.654. Volunteers read and signed the Informed Consent Form. The entire research was conducted following Resolution 196/96 of the National Health Council (Brazil) and adhered to the principles of the Declaration of Helsinki for research involving human subjects. Data were processed in accordance with the General Data Protection Law (Brazilian Law Nº 13.709/2018).

In the statistical analysis, the description of qualitative variables was expressed in absolute and relative frequency. The results of the quantitative variables are presented in mean and standard deviation (SD), median and interquartile range (IQR). Data were tested for normality by Shapiro-Wilk's test, and the correlations were assessed by Spearman's Correlation Coefficient (r_S). The r_S was accepted as low when 0.1-0.29; moderate when 0.3-0.59; strong when 0.6-0.89, and; very strong when >0.9.

The cut-off points were adopted following the most cited literature for LSM by VCTE [17], Agile 3+ [8] and Agile 4 [8,18] providing high sensitivity (Se) and specificity (Sp). Thus, the cut-offs used for advanced fibrosis were <0.351 and >0.679 for Agile 3+ [8] and <8 and >12 kPa [17] for LSM. For cirrhosis, the cut-offs were <0.169 and >0.388 for Agile 4 [18] and <10 and >15kPa [17] for LSM.

In the analyzes of advanced fibrosis and cirrhosis, applying the dual cut-offs, the proportion of patients with indeterminate scores, Se, Sp, positive predictive (PPV) and negative predictive (NPV) values were calculated for VCTE, Agile 3+ and Agile 4 scores, in comparison to the LB results. The analyzes have been done according two methods, being the first one the inclusion of all individuals included, and the second with the exclusion of patients with indeterminate results (named “grey area”). The area under the curve (AUROC) with the respective confidence interval 95% (CI 95%) was calculated for all tests. The p-value <0.05 was adopted as significant. The analyzes were performed in the statistical software SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 18.0, IBM Corp., Armonk, USA).

The statistical methods of this study were reviewed by the Statistical Committee of Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

RESULTS

Two hundred and twenty-one patients were included, being mostly women (n=146; 66%). There was a good homogeneity among groups when analyzing LF by LB (Table 1). The weight, height, BMI and other blood tests results were similar. However, the aminotransferases (ALT and AST) levels showed statistically significant difference across the groups, being higher proportionally to the fibrosis stage.

Also, almost 62% (n=137) of the patients in this study had type-2 diabetes mellitus (DM2). In patients without any stage of liver fibrosis, the prevalence of DM2 was 53% (n=33), increasing along with higher fibrosis stages: F1: 58% (n=52), F4: 86% (n=18).

It is important to notice that cirrhotic patients had the lowest average values for weight, BMI and LDL cholesterol, and the highest for triglycerides, ALT and AST (Table 1).

There was a strong correlation between the score Agile 3+ and the fibrosis stage (r=0.751) and between VCTE and fibrosis stage (r=0.729) evaluated by LB. The correlation between the score Agile 4 and the stages of fibrosis was moderate (r=0.535) (Table 2).

In Table 2 it is also possible to notice that both Agile scores and the VCTE present higher values the more advanced the stage of fibrosis. In Agile 3+ score, the mean value in patients with cirrhosis was 149% higher than in patients with advanced fibrosis. For VCTE, the cirrhotic patients have results three times higher when compared with the patients without advanced liver disease.

Considering the analyzes including all individuals (Table 3 and Figure 1.A), regarding AF, Agile 3+ presented better Se, Sp, PPV and NPV than VCTE solo, although without a better AUROC. When analyzing cirrhosis, data are all favorable to Agile 4, instead of VCTE solo, including AUROC. Nevertheless, in this scenario of all individuals included in the analyze, both VCTE solo and Agile 4 NPV were small, what means an insufficient accuracy in excluding AF and cirrhosis in the sample of patients.

When the individuals with indeterminate results are excluded, the AUROC for Agile scores and VCTE solo are better, for both AF and cirrhosis (Table 3 and Figure 1.B). In the evaluation of cirrhosis, Agile 4 and VCTE solo have shown AUROC >0.9. However, the low PPV in this scenario limits the capacity to confirm AF and cirrhosis.

In the evaluation of AF, the indeterminate results were 21.27% for both Agile 3+ and VCTE solo. Regarding cirrhosis, the “grey area” was 22.17% for VCTE solo and 12.22% for Agile 4.

As it can be seen at Table 3, VCTE solo showed good statistical significance, high sensitivity and specificity for diagnosing cirrhosis and advanced fibrosis in this sample of patients. Agile 4 have shown a better result in the detection of cirrhosis including all patients when compared to VCTE solo. In the remaining analyzes, AUROC was better for VCTE solo.

DISCUSSION

The present study showed that Agile 3+ and Agile 4 have a good correlation with both VCTE and LB, presenting acceptable Se, Sp and AUROC.

The scores Agile 3+ and Agile 4 were proposed to be used in the identification of AF and cirrhosis, respectively, and reduce the indeterminate results and the need of LB when compared to LSM by VCTE solo in patients with MASLD[8,9].

A recent study, by Pennisi et al, 2023, enrolling 1780 patients diagnosed with MASLD by LB[19], have shown similar accuracy of Agile 3+ compared to LSM solo (AUROC=0.88 for both of them). The same was found in Oeda et al[20] study, with 641 patients, when was not found differences between the Agile scores and VCTE, with good AUROC for both scores. However, critical differences between the analysis in both studies, and the one presented here, can be found. Pennisi et al[19], in their study, calculated new cutoff points based on their sample, decreasing the number of individuals on the indeterminate zone, which may lead the result to a higher significance; whereas Oeda et al[20] just excluded the patients in the indeterminate zone from the analyzes (more than a third of the sample), artificially reaching good results.

For all scores, like Agile scores, FIB-4 and others, that aim to diagnose liver disease avoiding the LB, a big problem is the area that are neither below the rule-out cutoff, nor above the rule-in cutoff (named “grey area”). For example, Sanyal et al, in the original validating study[8], suggested, for Agile 3+ scores <0.451 to rule-out, and ≥0.679 to rule-in, and; for Agile 4 <0.251 to rule-out and ≥0.565 to rule-in. This large area ends up resulting in uncertainty about the diagnosis. These different analyses (whether or not including patients in the gray area) can end up causing studies to reach different outcomes, directly impacting clinical practice.

Papatheodoridi et al[18], in their study, after directly request to the original authors[8], adjusted cut-offs for Agile 4, providing 90% Se and Sp (<0.169 and >0.388). The comparison, then, was between tests with the same theorical Se and Sp.

In the present study, analyzing all patients included, Agile 4 has shown a smaller indeterminate area when compared to VCTE solo in the identification of cirrhosis, similar to Papatheodoridi et al[18] study. The same result did not occur in AF patients, in which the grey area was similar among Agile 3+ and VCTE solo.

Also, in the present study, analyzing all individuals included in the study, adopting the Papatheodoridi’s cut-offs for AF, Agile 3+ had a indeterminate zone of 21.1% and the AUROC was 0.676. These results were not better than LSM by VCTE (Table 3), but were almost similar to what found Papatheodoridi's[18] study. For cirrhosis, Agile 4 presented a smaller indeterminate zone (12.2%), similar results comparing to Papatheodoridi's[18], and a higher AUROC (0.838) than LSM solo.

It must be noted that, following the same kind of analyzes made by Oeda's[20] study, excluding the indeterminate zona in the analyze of sensibility and specificity, there is a better accuracy in the results for both VCTE and Agile scores when used the original cutoffs[21] and also the adjusted ones (Table 3). Nevertheless, in the clinical practice, this proportion of patients in the "grey area" must be considered in the interpretation of the results from non-invasive methods for liver fibrosis. This is the reason why, even with less promising results, the analyzes that include all individuals are the most trustworthy in the evaluation of some method accuracy.

The present study was a multicenter study, on a multiethnic Brazilian population, which can be very different from studies in populations more homogeneous, like Japanese population[20], or even in studies in a single center. It means that the differences in the results found in this study may be explained through the differences in the data used to calculate the Agile scores.

It is possible to notice that the sample of the present study had mean age lower than Oeda's[20]and Miura's[22] studies, however it was almost the same than Sanyal's, Pennisi's and Papatheodoridi's study[8,18,19,23]. The present study had lower levels of aminotransferases than the Sanyal's[8] and Oeda's studies [20]. The prevalence of DM2 in our study (61.5%) was higher than Oeda's [20] (54.9%), Sanyal's[8](45.8 - 51%) and Papatheodoridis's [18] (41.8%). However, Pennisi et al[19] conducted their work only with diabetic patients.

Although those data are directly connected to the Agile scores results, the formulas have this exactly function: to correct possible inequalities in sample's distributions. But, as those formulas are still new, and were not tested in multiple populations, we still need to clarify if some correction are needed for populations, for example, with low DM2 prevalence, such as Sanyal et al[8], or higher proportions, like the Pennisi's study [23].

Regarding the stages of LF, in the original study, Sanyal et al[8] found a prevalence of 37% for AF, and 13% for cirrhosis. Those percentages may affect the PPV and NPV calculation. In this scenario, the PPV found was 81% and 63% for Agile 3+ and Agile 4, respectively; and the NPV found was 90% and 97% for Agile 3+ and Agile 4, respectively. Comparing to the original study, Papatheodoridi et al[18] found a lower prevalence for both AF (28.5%) and cirrhosis (11.8%), and the PPV found was 65% and 48% for Agile 3+ and Agile 4, respectively; and the NPV found was 95% and 97% for Agile 3+ and Agile 4, respectively. As expected, the lower prevalence of AF and cirrhosis reduced the PPV and increased the NPV.

In the present study, the prevalence of AF and cirrhosis, proven by LB, were 21.72% and 9.55%, respectively, smaller than the other comparable papers[8,18,20,22,23]. When analyzing AF, the PPV was 97.06% and 96.69% and the NPV was 69.05% and 62.75% for Agile 3+ and VCTE solo, respectively. In cirrhosis investigation, the PPV was 95.65% and 95.28% and the NPV was 42.86% and 32.61% for Agile 4 and VCTE solo, respectively. It means that both Agile scores and VCTE solo are more useful in confirm AF and cirrhosis and less reliable in excluding them.

The VCTE is the most validated non-invasive method to exclude advanced liver fibrosis, demonstrating high sensibility and sensitivity [24]. However, limitations exist, with reduced reproducibility in patients with large steatosis, elevated BMI, and early fibrosis. A systematic review with meta-analysis[25] evaluated 82 studies (14,609 patients), showing that the accuracy for diagnosing advanced fibrosis in patients with MASLD is 85%. Another meta-analysis[26] included data from 37 studies (5,735 patients) evaluating the diagnostic performance of VCTE in MASLD, showing an AUROC of 0.85 in the diagnosis of advanced fibrosis. Supporting this information, a prospective multicentric study[4] evaluated 450 adults, in which LSM by VCTE identified patients with fibrosis with an AUROCs of 0.80 for fibrosis $\geq$F3, and 0.89 for fibrosis $\geq$ F4. In the most recent study from the LITMUS Project, VCTE showed acceptable accuracy with an AUROC of 0.83[16]. Notably, the results with VCTE were less significant in detecting MASLD and fibrosis (AUROC 0.61), similar to FIB-4 score. For the present study, AUROC was 0.741 for AF and 0.799 for cirrhosis.

This study has some limitations. Although it is a multicenter study, the number of participants is relatively small when compared to previous studies. In consequence, with a smaller proportion of patients with AF and cirrhosis, it is more difficult to achieve statistically significant results. Also, once this is a retrospective real-life study, the LB were analyzed by a single pathologist in each center and the records were collected in the medical registry.

Another limitation, not specific to this study, but to this area of knowledge, is the lack of validations studies for Agile 3+ and Agile 4, because they are new scores, published for the first time in 2021[9], and widely discussed in the literature since 2023[8]. So, studies like ours are very important, in order to advance the knowledge about those scores, testing it in different populations.

In conclusion, the present study confirmed a good correlation between the Agile scores and VCTE with the stages of fibrosis in individuals with MASLD. Also, there was good reliability in AF and cirrhosis. Agile 4 classified correctly the presence or absence of cirrhosis better than VCTE solo in this population, with a smaller indeterminate zone.

Acknowledgements: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

REFERENCES

1. Rinella ME, Lazarus JV, Ratziu V, et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology* 2023;78(6): 1966-1986.
2. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016;64(1): 73-84.
3. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD; American Association for the Study of Liver Diseases. Liver biopsy. *Hepatology* 2009;49(3): 1017-1044.
4. Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, et al. Prospective Study of Outcomes in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2021;385(17): 1559-1569.
5. Davison BA, Harrison SA, Cotter G, et al. Suboptimal reliability of liver biopsy evaluation has implications for randomized clinical trials. *J Hepatol* 2020;73(6): 1322-1332.

6. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis - 2021 update. *J Hepatol* 2021;75(3): 659-689.
7. Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, et al. Accuracy of FibroScan Controlled Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2019;156(6): 1717-1730.
8. Sanyal AJ, Foucquier J, Younossi ZM, et al. Enhanced diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis in individuals with NAFLD using FibroScan-based Agile scores. *J Hepatol* 2023;78(2): 247-259.
9. Younossi Z., Harrison SA, Sanyal AJ (on behalf of the NASH Clinical Research Network, NIDDK, NIH). Development and validation of Agile 3+: novel FibroScan based score for the diagnosis of advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J hepatology* 2021; 75(2): 257.
10. Nuttall FQ. Body Mass Index: Obesity, BMI, and Health: A Critical Review. *Nutr Today* 2015;50(3): 117-128.
11. Neuberger J, Patel J, Caldwell H, et al. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice from the British Society of Gastroenterology, the Royal College of Radiologists and the Royal College of Pathology. *Gut* 2020;69(8): 1382-1403.
12. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41(6): 1313-1321.
13. Newsome PN, Sasso M, Deeks JJ, et al. FibroScan-AST (FAST) score for the non-invasive identification of patients with non-alcoholic steatohepatitis with significant activity and fibrosis: a prospective derivation and global validation study [published correction appears in *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020 Apr;5(4): e3]. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020;5(4): 362-373.
14. de Lédinghen V, Vergniol J. Transient elastography (FibroScan). *Gastroenterol Clin Biol* 2008;32(6 Suppl 1): 58-67.
15. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003;29(12): 1705-1713.

16. Vali Y, Lee J, Boursier J, et al. Biomarkers for staging fibrosis and non-alcoholic steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver disease (the LITMUS project): a comparative diagnostic accuracy study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2023;8(8): 714-725.
17. Papatheodoridi M, Hiriart JB, Lupsor-Platon M, et al. Refining the Baveno VI elastography criteria for the definition of compensated advanced chronic liver disease. *J Hepatol* 2021;74(5): 1109-1116.
18. Papatheodoridi M, De Ledinghen V, Lupsor-Platon M, et al. Agile scores in MASLD and ALD: External validation and their utility in clinical algorithms. *J Hepatol* [Online, 23 May 2024].
19. Pennisi G, Enea M, Falco V, et al. Noninvasive assessment of liver disease severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and type 2 diabetes. *Hepatology* 2023;78(1): 195-211.
20. Oeda S, Seko Y, Hayashi H, et al. Validation of the utility of Agile scores to identify advanced fibrosis and cirrhosis in Japanese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2023;53(6): 489-496.
21. Ferreira LF, Manica M, Tovo CV et al. Patients with uncertain advanced fibrosis and cirrhosis diagnosis by Agile3+ and Agile4 scores cannot be excluded in validation studies. *Hepatol Res* 2023;54(5): 495-496. doi.org/10.1111/hepr.13996
22. Miura K, Hayashi H, Kamada Y, et al. Agile 3+ and Agile 4, noninvasive tests for liver fibrosis, are excellent formulae to predict liver-related events in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2023;53(10): 978-988.
23. Pennisi G, Enea M, Pandolfo A, et al. AGILE 3+ Score for the Diagnosis of Advanced Fibrosis and for Predicting Liver-related Events in NAFLD. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2023;21(5): 1293-1302.e5.
24. Paternostro R, Reiberger T, Bucsics T. Elastography-based screening for esophageal varices in patients with advanced chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2019;25(3): 308-329.
25. Selvaraj EA, Mózes FE, Jayaswal ANA, et al. Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2021;75(4): 770-785.

26. Mózes FE, Lee JA, Selvaraj EA, et al. Diagnostic accuracy of non-invasive tests for advanced fibrosis in patients with NAFLD: an individual patient data meta-analysis. *Gut* 2022;71(5): 1006-1019.

Table 1. Basal characteristics of total sample, and categorized by stage of fibrosis evaluated by liver biopsy

Continuous Data mean±SD	**Total Sample** (n=220/ 100%)	**FIB 0** (n=61/ 27.6%)	**FIB 1** (n=90/ 40.72%)	**FIB 2** (n=21/ 9.5%)	**FIB 3** (n=27/ 12.22%)	**FIB 4** (n=21/ 9.5%)	p^a
Age (years)	55.02 ± 10.05	53.28 ± 9.65	55.12 ± 9.59	53.14 ± 9.8	56.63 ± 9.8	59.23 ± 10.37	.170
Weight (Kg)	84.46 ± 16.03	85.93 ± 16.61	86.22 ± 16.62	77.29 ± 13.42	88.39 ± 13.42	74.44 ± 10.92	.083
Height (m)	1.6 ± 0.09	1.6 ± 0.1	1.59 ± 0.1	1.62 ± 0.06	1.59 ± 0.06	1.6 ± 0.1	.875
BMI	32.18 ± 5.29	32.73 ± 5.26	32.61 ± 5.5	29.93 ± 5.33	32.67 ± 5.33	30.42 ± 3.7	.131
TB	0.62 ± 0.79	0.73 ± 1.33	0.55 ± 0.23	0.48 ± 0.23	0.63 ± 0.23	0.67 ± 0.23	.807
HDL	49.02 ± 18.54	50.48 ± 24.29	48.14 ± 14.9	42.33 ± 10.81	52.59 ± 10.81	50.59 ± 20.84	.341
LDL	107.35 ± 38.5	108.11 ± 37.06	113.11 ± 37.49	110.52 ± 52.65	96.98 ± 52.65	91 ± 27.82	.113
TC	189.44 ± 41.43	195.47 ± 37.43	192.1 ± 39.77	184.43 ± 62.23	179.19 ± 62.23	179.59 ± 39.73	.353
TG	170.32 ± 97.75	188.52 ± 132.86	152.93 ± 76.28	181.86 ± 69.76	162.48 ± 69.76	189.64 ± 98.55	.159
AST	35.55 ± 22.86	29.66 ± 17.8	32.31 ± 17.66	39.05 ± 22.7	44.19 ± 22.7	51.23 ± 41.12	$.000^b$
ALT	47.13 ± 30.37	39.3 ± 24.82	44.83 ± 28.12	53.13 ± 27.92	55.14 ± 27.92	62.68 ± 43.86	$.006^b$
VCTE	9.9 ± 6.87	7 ± 2.6	8.1 ± 4.18	8.9 ± 4.95	13.3 ± 6.3	22.5 ± 10.38	$.000^b$

Categoric Data - n (%)							
SAH	94 (42.53)	34 (15.38)	36 (16.29)	7 (3.17)	8 (3.62)	9 (4.07)	.712
DM	137 (61.99)	33 (14.93)	52 (23.53)	17 (7.24)	17 (6.33)	18 (8.14)	.024[b]
Dyslipidemia	96 (43.44)	31 (14.03)	40 (18.1)	9 (4.07)	9 (4.07)	7 (3.17)	.377
Met. Syndrome	103 (46.61)	37 (16.74)	44 (19.91)	7 (3.17)	9 (4.07)	6 (2.71)	.751

Where: n: sample; FIB 0: no fibrosis; FIB 1: minimum fibrosis; FIB 2: moderate fibrosis, FIB 3: advanced fibroses; FIB 4: cirrhosis Kg: kilograms; m: meters; BMI: Body mass index; TB: total bilirubin; HDL: High density lipoprotein cholesterol; LDL: Low density lipoprotein cholesterol; TC: total cholesterol; AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase; VCTE: Vibration-Controlled Transient Elastography; SAH: systemic arterial hypertension; DM2: Type 2 Diabetes Mellitus; Met. Syndrome: Metabolic syndrome; [a]Anova One Way for independent means; [b]Statistically significant difference

Table 2. Correlation analysis between stage of fibrosis (by liver biopsy) comparing Agile 3+ score, Agile 4 score and VCTE.

Stage of Fibrosis	**Sample** n (%)	**Agile 3+** Mean ± SD	**Agile 4** Mean ± SD	**VCTE** Mean ± SD
0	61 (27.73)	0.047 ± 0.07	0.286 ± 0.248	7.013 ± 2.61
1	90 (40.91)	0.065 ± 0.127	0.337 ± 0.258	8.069 ± 4.181
2	21 (9.55)	0.115 ± 0.172	0.415 ± 0.329	8.929 ± 4.951
3	27 (12.27)	0.211 ± 0.172	0.631 ± 0.329	13.3 ± 4.951
4	21 (9.55)	0.527 ± 0.303	0.861 ± 0.228	22.523 ± 10.387
		r: .751[c] p: <.001[a]	r: .535[b] p: <.001[a]	r: .729[c] p: <.001[a]

Where: Level 0: no fibrosis; 1: minimum fibrosis; 2: moderate fibrosis, 3: advanced fibroses; 4: cirrhosis; n: sample; %: relative sample; [a]Correlation statistically significant by Spearman's X^2 Correlation; [b]Moderate Correlation; [c]Strong Correlation.

Table 3. AUROC for identification of fibrosis according to VCTE, Agile 3+ and Agile 4 scores between patients with advanced fibrosis or cirrhosis diagnosed by liver biopsy – Including all patients and excluding uncertain cases.

	Diagnosis	n (%)	Method	Sensitivity	Specificity	AUROC (CI 95%)	PPV	NPV	p value
INCLUDING ALL PATIENTS	**Advanced Fibrosis**	220 (100%)	VCTE	86.03%	88.89%	.741 (.673-.810)	96.69%	62.75%	<.001
			Agile 3+	88.39%	90.63%	.676 (.601-.751)	97.06%	69.05%	<.001
	Cirrhosis		VCTE	79.61%	71.43%	.799 (.741-.857)	95.28%	32.61%	<.001
			Agile 4	86.84%	71.43%	.838 (.759-.916)	95.65%	42.86%	<.001
EXCLUDING UNCERTAIN PATIENTS	**Advanced Fibrosis**	172 (77.83%)	VCTE	88.8%	87.7%	.868 (.799-.937)	66.6%	96.6%	<.001
		174 (78.73%)	Agile 3+	82.5%	81.8%	.822 (.743-.900)	57.8%	93.9%	<.001
	Cirrhosis	174 (78.73%)	VCTE	100%	91.0%	.956 (.927-.985)	51.7%	100%	<.001
		194 (87.78%)	Agile 4	88.2%	94.8%	.919 (.811-1.000)	62.5%	98.8%	<.001

Where: n: total sample included; %: relative sample included; AUROC: Area under the ROC curve; CI: Confidence interval; p: statistical significance; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value.

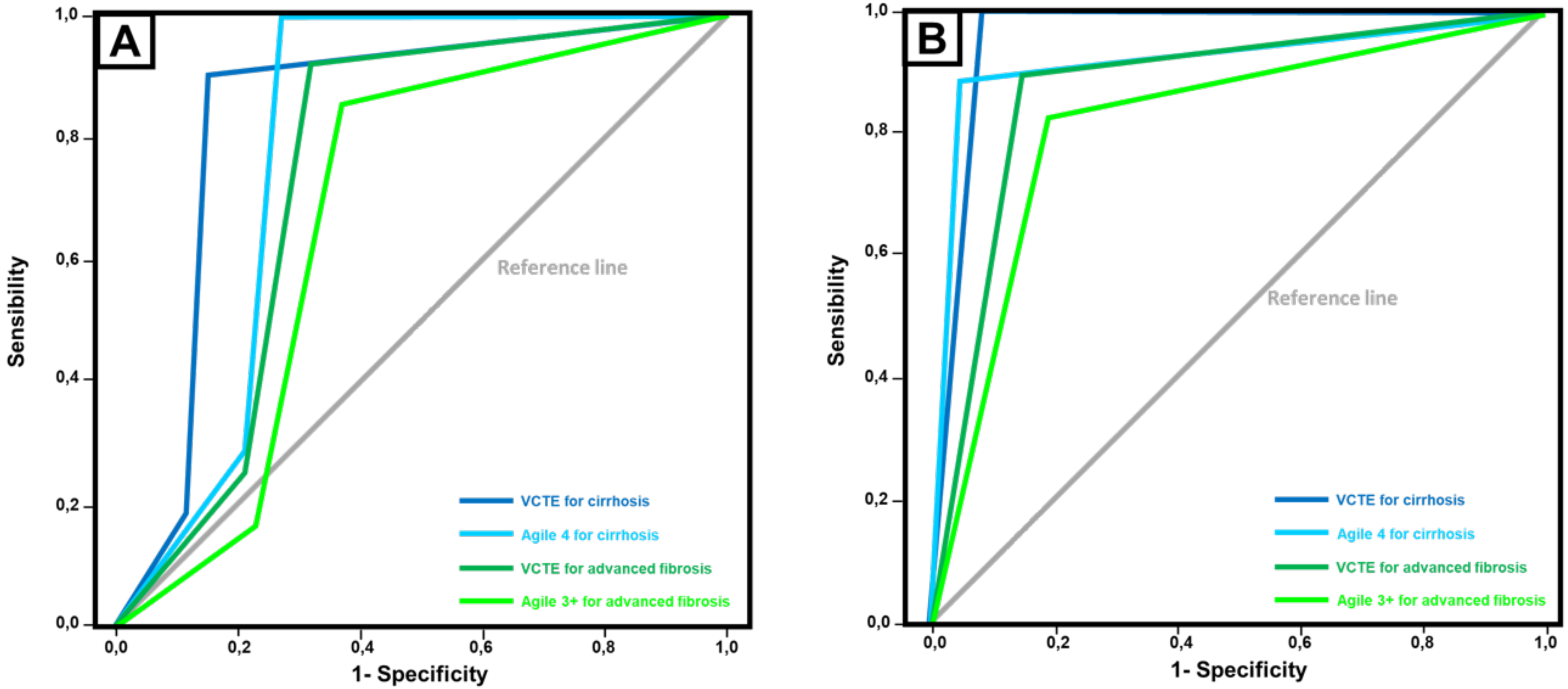

Figure 1. ROC Curves from Vibration-Controlled Transient Elastography, Agile 3+ and Agile 4 scores between patients with advanced fibrosis and cirrhosis diagnosed by liver biopsy. A) Including the whole sample (n=220); B) Excluding patients on uncertain zones (excluded: n=49/ 22.17% from VCTE for cirrhosis; n=27/ 12.22% from Agile 4; n=47/ 21.27% from VCTE for advanced fibrosis; n=47/21.27% from Agile 3+).

6. CONCLUSÃO

- Os escores Agile 3+ e Agile 4 demonstraram adequada correlação com os resultados de biópsia hepática em todos os estágios de fibrose, com sensibilidade, especificidade e AUROC aceitáveis.

- A acurácia para diagnosticar fibrose avançada foi similar entre o escore Agile 3+ e a VCTE isolada, com resultados indeterminados também semelhantes.

- Na avaliação de cirrose, a acurácia do escore Agile 4 foi superior à VCTE isolada, além de apresentar uma menor proporção de resultados indeterminados.