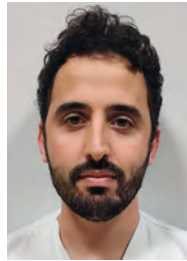


Liver Fat Quantification: When do We Need It?

Leberfett-quantifizierung: Brauchen wir das?



Fabio Piscaglia



Bernardo Stefanini



Eleonora Terzi



Mariarosaria Marseglia



Vito Cantisani

Correspondence

Prof. Fabio Piscaglia, MD, PhD
Department of Medical and Surgical Sciences,
University of Bologna, Bologna, Italy
fabio.piscaglia@unibo.it

Bibliography

Ultraschall in Med 2023; 44: 120–124
DOI 10.1055/a-2015-5693
ISSN 0172-4614
© 2023. Thieme. All rights reserved.
Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany

In recent years the most rapidly emerging disease in general hepatology is the Metabolic dysfunction-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) [1, 2]. This is a new definition, which was suggested to replace and extend what was previously known as Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Non Alcoholic Steatohepatitis (NASH) [1]. The new proposal of MAFLD was set forward because the criterion for diagnosing NAFLD/NASH requires absence of any other chronic liver condition (e. g. viral hepatitis, immune-related cholestatic liver disease, etc) and absence of any over threshold intake of alcohol [1]. The terms NAFLD/NASH are correct to establish a diagnosis of liver disease purely caused by metabolic dysfunction, useful to better understand the natural history of the disease, especially in a scientific setting, but does not reflect the real-life situation, where many patients may actually suffer from metabolic liver disease on top of other liver conditions and the two conditions may or may not both contribute to the progression and complications of the liver disease with different and not well definable relevance [3]. For instance, the persistence of minimally elevated liver enzymes in slightly overweight patients after cure of HCV or after full dosage of ursodesoxycholic acid in Primary Biliary Cholangitis or Primary Sclerosing Cholangitis or after drastic reduction or the suspension of alcohol intake often raise the question whether an underlying MAFLD is present. This adds obviously to the question of whether some elevation of liver enzymes in the absence of any known etiological factor may be due to NAFLD when ultrasonography does not detect an obvious bright liver. In all these and in other situations the precise

assessment of liver fat content may be crucial, when this is not obvious on conventional ultrasonography.

Historically and still at present the reference standard for the assessment of an excess of liver fat content, for establishing presence and grade of inflammation (i. e., hepatitis) and degree of consequent fibrotic deposition (staging) is histology [4, 5]. In the absence of an excess of liver fat content (histologically set at > 5 % of hepatocytes) [5] a contribution of metabolic fat conditions to liver abnormalities can be ruled out. However, biopsy is a (mini-) invasive procedure and thus hardly applicable to very large number of symptomless patients. Therefore, non-invasive techniques have been developed trying to answer any possible question otherwise requiring biopsy. In this issue of the journal the article by Bauer and colleagues [6] reports on the use of shear wave ultrasound elastography methods to screen patients with NAFLD for the presence of significant fibrosis or cirrhosis, a topic which has been the focus of some relevant publications to which Bauer adds another significant piece of information. However, we would like to bring to attention here the value of research in the field of the step before fibrosis quantification in NAFLD patients, which is whether there is an excess of fat content and to which extent. Do we need to have this information?

In simple words, do we need liver fat quantification?

1. The extent of steatosis is commonly evaluated and reported semi-quantitatively on bioptic specimens. The most reproducible method follows the acinar architecture dividing the liver parenchyma and assessing percentage involvement by steatotic hepatocytes according to three steatotic classes: 5%–33%–

mild, 33%–66%–moderate or >66% – severe steatosis, being 0%–5% the condition of no steatosis. Various ultrasound-based methods to assess liver steatosis exist, which are extensively described in a recently published position paper [7]. Most of the methods have been compared to histologically established liver steatosis, showing in general a significant correlation between ultrasound parameters and semi-quantitative grades of steatosis, with however a significant overlap between ultrasound estimated classes [8]. This also implies that such methods cannot be utilized to definitively establish a steatotic grade at present, but most importantly also not to establish whether the patient has no steatosis or rather mild steatosis in dubious cases (generally corresponding to a fatty infiltration of only 5% to 15%, sufficient to cause liver enzymes abnormalities in predisposed patients, but hardly recognizable at ultrasonography). At present therefore the need to accurately distinguish no steatosis from mild steatosis in dubious cases, which would be a relevant need, remains insufficiently satisfied by currently available ultrasound-based liver fat quantification methods, due to the overlap in measures between no or very mild steatosis.

2. Another critical step is that the reproducibility of the demonstration of ultrasound methods to precisely measure changes in liver fat content over time has not been provided so far, since very difficult to achieve. In fact, when patients lose weight (or gain weight) ultrasound methods may display changes in quantification variables. However, whether this corresponds strictly to histological changes of fat content has been simply assumed for true, but never definitively demonstrated, since usually patients are not submitted to repeat biopsy to demonstrate changes in fat content, thus preventing the possibility of achieving solid scientific evidence. This may only happen in pharmacological experimental trials, in which, however, another variable (drug treatment) is in place. Such possibility, namely to declare a decrease or an increase in liver fat content, would be a good tool to motivate patients to change unhealthy life-styles or reinforce the benefits of the adopted changes. We have all experienced patients coming to standard ultrasonography exams after having lost weight, who put the question to the operator: “is my liver less steatotic now?” or when they gain weight they whisper “has my liver become more steatotic?” This question is currently inaccurately answered by the visual impression of the operator.
3. In keeping with the latter issue of changes over time and in connection with the need of liver fat quantification we would like to remind that extremely few drugs have provided some evidence of clinical benefit in NASH so far (and mainly on histology, without long term clinical endpoints). The difficulties in achieving positive trials in this field is so big, that new forms of studies are envisioned [9]. For these few effective drugs (and so far none of them widely accepted for reimbursement by National Agencies in Europe) there is no evidence that the decrease in liver fat content can be utilized as a surrogate marker of drug efficacy, limiting the need for liver fat quantification. However, if a new drug will ever arrive, providing clinical benefit to an extent to make it recommended in clinical practice for NASH, and changes in liver fat content will be demonstrated

(which is not unlikely) to be a good biomarker associated with response, then the need for non-invasive ultrasound quantification of liver fat content will become very strong. Therefore, trying to develop reliable ultrasound methods for liver fat quantification now is desirable, in order that we will be found prepared then. In fact, there would be insufficient availability of MRI scanners to satisfy such need with alternative methods, such as MRI-PDFF (Magnetic Resonance Imaging-estimated Proton Density Fat Fraction) [8].

4. In addition to establishing the presence of MAFLD, clarifying to presence or absence of significant or advanced fibrosis is crucial for the best management of such patients. To this end liver ultrasound elastography methods are reliable and convenient methods [10], as also shown by Bauer in this issue of the journal [6] and thus recommended. Furthermore, liver stiffness values contribute to build accurate prognostication score for liver disease evolution [11]. However, Petta and colleagues have demonstrated that higher degrees of liver fat infiltration increase the risk of overestimation of liver fibrosis assessed by ultrasound elastography [12] and that the combination of liver fat quantification with elastography makes the non-invasive liver staging in NAFLD patients more accurate [13]. This might therefore be held as a clinical need for better ultrasound fat quantification, especially whenever this will become confirmed also with methods embedded in conventional ultrasound equipment.

At last, whenever the need for ultrasound liver fat quantification will take a definitive place, also potentially because of adequate quantification modalities, as illustrated above, attention will have to be paid to individual methods and units expressing the information. In fact, different modalities exist. Some methods, such as the UDF (Ultrasound-Derived Fat Fraction), quantify liver fat content in terms of percentages [8] similarly to the MRI based PDFF methods. Worth to outline, that such percentages do not correspond to histological percentages. For instance, an UDF value of 25–30% suggests the presence of already severe histological fibrosis (but corresponding to >66% fat hepatocytes at histology). Other methods quantify the acoustic attenuation and express the values in terms of dB/m [12, 13] with values falling in the range of approximately 150–300 dB/m, while others use dB/cm-MHz [8], with values ranging 0.5–1.5 dB/cm-MHz. Other methods use ultrasound speed estimation measured in mm/microsec, with values usually in the range of 1500–1600 mm/microsec [14], making the field of liver fat quantification methods animated. Most likely the methods will not be interchangeable to satisfy the clinical needs and evidence should preferably be provided for each technique.

To conclude, the needs for ultrasound liver fat quantification are limited at present, also in view of the potential of the current methods, but they may become much requested in the future and the ultrasound community and industry must let themselves be found prepared.

Leberfett-Quantifizierung: Brauchen Wir Das?

Die in den letzten Jahren am stärksten zunehmende Krankheit in der Hepatologie ist die metabolismusassoziierte Fettlebererkrankung.

kung (MAFLD, „metabolic associated fatty liver disease“) [1, 2]. Dabei handelt es sich um eine neue Bezeichnung, die vorgeschlagen wurde, um die bisher gebräuchlichen Fachausdrücke „Nichtalkoholische Fettlebererkrankung“ (NAFLD) und „Nichtalkoholische Steatohepatitis“ (NASH) zu ersetzen und zu erweitern [1]. Der Name MAFLD wurde vorgeschlagen, weil das Diagnosekriterium für die NAFLD/NASH voraussetzt, dass eine andere chronische Lebererkrankung (z. B. virale Hepatitis, immunbedingte cholestatische Lebererkrankung usw.) und übermäßiger Alkoholkonsum nicht vorliegen [1]. Die Begriffe NAFLD/NASH sind korrekt bei der Diagnosestellung einer Lebererkrankung, die ausschließlich durch eine Stoffwechselstörung verursacht wird und sie sind nützlich, um den natürlichen Verlauf der Krankheit besser zu verstehen, insbesondere in wissenschaftlicher Hinsicht. Allerdings spiegeln sie nicht die Lebenswirklichkeit wider, da viele Patienten zusätzlich zu anderen Lebererkrankungen auch an einer Stoffwechselerkrankung leiden können. Beide Erkrankungen können eine unterschiedliche und nicht genau definierbare Rolle spielen, was das Fortschreiten und die Komplikationen der Lebererkrankung anbelangt [3]. So stellt sich häufig die Frage, ob beispielsweise die Persistenz minimal erhöhter Leberenzyme bei leicht übergewichtigen Patienten durch eine zugrunde liegende MAFLD bedingt ist, wenn folgende Bedingungen zutreffen: nach Heilung einer HCV oder nach voller Dosierung von Ursodesoxycholsäure bei primär biliärer Cholangitis bzw. primär sklerosierender Cholangitis oder nach drastischer Reduzierung des Alkoholkonsums bzw. Abstinenz. Damit stellt sich natürlich auch die Frage, ob eine gewisse Erhöhung der Leberenzyme bei Fehlen der bekannten ätiologischen Faktoren durch NAFLD bedingt ist, wenn im Ultraschall keine auffällig helle Leber zu sehen ist. In all diesen und anderen Situationen kann die exakte Bestimmung des Leberfettgehalts entscheidend sein, wenn der Befund im konventionellen Ultraschall nicht eindeutig ist.

In der Vergangenheit und noch heute ist die Histologie der Referenzstandard für die Beurteilung eines erhöhten Leberfettgehalts, um das Vorhandensein und den Grad einer Entzündung festzustellen (d. h. Hepatitis) und das Ausmaß der daraus resultierenden fibrotischen Veränderungen (Staging) zu beurteilen [4, 5]. Liegt ein erhöhter Leberfettgehalt, der histologisch durch $> 5\%$ der Hepatozyten nachgewiesen wird, nicht vor [5], so kann ausgeschlossen werden, dass Fettstoffwechselstörungen für die Leberanomalien verantwortlich sind. Da die Biopsie jedoch ein (minimal-)invasives Verfahren ist, findet sie bei der großen Anzahl asymptomatischer Patienten kaum Anwendung. Daher wurden nicht invasive Techniken entwickelt, um alle möglichen diagnostischen Fragestellungen zu beantworten, für die sonst eine Biopsie erforderlich wäre. In dieser Ausgabe der Zeitschrift berichten Bauer und Kollegen [6] über den Einsatz der Scherwellen-Ultraschall-Elastografie für das Screening von Patienten mit NAFLD hinsichtlich des Auftretens einer signifikanter Fibrose oder Zirrhose. Dieses Thema stand im Mittelpunkt einiger einschlägiger Veröffentlichungen und Bauer leistet hierzu einen weiteren wichtigen Beitrag. Wir möchten an dieser Stelle auf den Wert der Forschung hinweisen, was den Schritt vor der Fibrose-Quantifizierung von NAFLD-Patienten anbelangt, d. h. ob und in welchem Ausmaß ein erhöhter Fettgehalt vorliegt. Brauchen wir diese Information?

In einfachen Worten: Brauchen wir die Leberfett-Quantifizierung?

1. Das Ausmaß der Steatose wird in der Regel mittels Biopsie semiquantitativ bewertet und angegeben. Die am besten reproduzierbare Methode folgt der azinären Architektur, wobei das Leberparenchym unterteilt und der prozentuale Anteil der steatotischen Hepatozyten nach 3 Steatosegraden bewertet wird: 5–33%: leicht, 33–66%: mäßig oder $> 66\%$: schwere Steatose, wobei 0–5% der steatosefreie Zustand ist. Es gibt verschiedene ultraschallbasierte Methoden zur Beurteilung der Lebersteatose, die in einem kürzlich veröffentlichten Positionspapier ausführlich beschrieben werden [7]. Die meisten dieser Methoden wurden mit der histologisch diagnostizierten Lebersteatose verglichen und zeigten in der Regel eine signifikante Korrelation zwischen den Ultraschallparametern und den semiquantitativen Steatosegraden, allerdings mit erheblichen Überlappungen bei den mittels Ultraschall bewerteten Grad [8]. Dies bedeutet auch, dass derartige Methoden zum jetzigen Zeitpunkt nicht zur endgültigen Bestimmung eines Steatosegrades verwendet werden können, insbesondere dann nicht, wenn man feststellen will, ob beim Patienten keine Steatose oder eher eine fragliche, milde Steatose vorliegt. Letztere entspricht in der Regel einer Fettinfiltration von nur 5–15%, die ausreicht, um bei prädisponierten Patienten auffällige Leberenzymwerte hervorzurufen, die aber im Ultraschall schwer zu erkennen ist. Die derzeit verfügbaren ultraschallbasierten Methoden zur Quantifizierung des Leberfettgehalts sind daher nicht in der Lage, in fraglichen Fällen exakt zwischen steatosefreiem Zustand und einer milden Steatose zu unterscheiden. Dies wäre aber erforderlich, da sich bei diesen beiden Zuständen die Messwerte überlappen.
2. Ein weiterer entscheidender Schritt besteht darin, dass es keinen Beweis für die Reproduzierbarkeit der Ultraschallmethoden zur präzisen Messung von Leberfettgehaltveränderungen im zeitlichen Verlauf gibt, da dies äußerst schwierig zu evaluieren ist.
3. Wenn Patienten an Gewicht verlieren (oder zunehmen), können Ultraschallmethoden tatsächlich Veränderungen in den Quantifizierungsvariablen anzeigen. Ob dies jedoch genau mit den histologischen Veränderungen des Fettgehalts übereinstimmt, wurde bisher nur vermutet, nicht jedoch endgültig nachgewiesen. Da man für den Nachweis von Veränderungen des Fettgehalts meistens keine erneute Biopsie beim Patienten vornimmt, ist es nicht möglich, solide wissenschaftliche Erkenntnisse zu gewinnen. Dies ist nur im Rahmen pharmakologischer Studien möglich, bei denen allerdings eine weitere Variable, die medikamentöse Behandlung, vorhanden ist. Die Möglichkeit festzustellen, ob der Leberfettgehalt zu- oder abnimmt, wäre ein gutes Mittel, um Patienten zu motivieren, ungesunde Lebensgewohnheiten zu ändern bzw. es könnte den bereits vorgenommenen Veränderungen mehr Nachdruck verleihen. Wir alle haben schon erlebt, dass Patienten, die nach einer Gewichtsabnahme zur Standard-Ultraschalluntersuchung kommen, dem Untersucher die Frage stellen: „Hat sich meine Fettleber zurückgebildet?“ – oder wenn sie an Gewicht zugenommen haben, fragen sie zaghaft „Hat sich meine Fettleber verschlimmert?“. Der Untersucher kann diese Fragen aufgrund des visuellen Eindrucks derzeit nur ungenau beant-

worten. Hinsichtlich des letztgenannten Aspekts, den Veränderungen im Zeitverlauf und der Notwendigkeit, den Leberfettgehalt zu quantifizieren, möchten wir daran erinnern, dass bisher nur sehr wenige Medikamente bei NASH einen klinischen Nutzen gezeigt haben – dies hauptsächlich auf histologischer Basis ohne klinische Langzeit-Endpunkte. Die Schwierigkeiten, valide Studien auf diesem Gebiet auszuführen, sind so groß, dass neue Studienformen ins Auge gefasst werden [9]. Für die wenigen wirksamen Medikamente, für welche die nationalen Behörden in Europa keine Kostenerstattung geben, gibt es keine Evidenz, dass eine Abnahme des Leberfettgehalts als Surrogatmarker für dessen Wirksamkeit angesehen werden kann. Dadurch ist der Bedarf an einer Quantifizierung des Leberfettgehalts begrenzt. Sollte jedoch jemals ein neues Medikament auf den Markt kommen, das einen klinischen Nutzen in dem Ausmaß bietet, dass es in der klinischen Praxis bei NASH empfohlen wird, und sollte sich – was nicht unwahrscheinlich ist – herausstellen, dass Veränderungen des Leberfettgehalts ein guter Biomarker für das Therapieansprechen sind, dann wird die nicht invasive Ultraschall-Quantifizierung gebraucht werden. Daher ist es wünschenswert, bereits jetzt zuverlässige Ultraschallmethoden zur Quantifizierung des Leberfettgehalts zu entwickeln, damit wir dann darauf vorbereitet sind. In der Tat würden nicht genügend MRT-Scanner zur Verfügung stehen, um diesen Bedarf mit alternativen Methoden wie PDFF („proton density fat fraction“) [8] decken zu können.

4. Neben der Diagnose einer MAFLD ist die Klärung der Frage, ob eine signifikante oder fortgeschrittene Fibrose vorliegt oder nicht, von entscheidender Bedeutung für die optimale Behandlung dieser Patienten. Die Ultraschall-Elastografie der Leber ist hierfür eine zuverlässige und praktische Methode [10], wie dies auch von Bauer in dieser Ausgabe gezeigt [6] und daher empfohlen wird. Darüber hinaus tragen die Lebersteifigkeitswerte dazu bei, einen exakten Score für die Prognose der Lebererkrankung zu erstellen [11]. Petta und Kollegen haben jedoch gezeigt, dass ein höherer Grad an Leberfettinfiltration das Risiko erhöht, die mittels Ultraschall-Elastografie gemessene Leberfibrose zu überschätzen [12] und dass eine Kombination von Leberfettquantifizierung und Elastografie das nicht invasive Leber-Staging bei NAFLD-Patienten verbessert [13]. Dies könnte daher als klinische Notwendigkeit für eine bessere Ultraschall-Fettquantifizierung angesehen werden, insbesondere, wenn dies auch mit Methoden bestätigt wird, die in herkömmliche Ultraschallgeräte eingebettet sind.

Spätestens wenn die Ultraschall-Leberfettquantifizierung benötigt wird und den entsprechenden Stellenwert bekommt – möglicherweise aufgrund der oben beschriebenen, geeigneten Quantifizierungsmodalitäten – muss den einzelnen Methoden und Einheiten, die die Informationen ausdrücken, Aufmerksamkeit geschenkt werden.

In der Tat gibt es verschiedene Modalitäten. Einige Methoden, wie die UDF (Ultrasound-Derived Fat Fraction), quantifizieren den Leberfettgehalt in Form von Prozentsätzen [8], ähnlich wie die MRT-basierten PDFF-Methoden. Es ist zu erwähnen, dass solche Prozentwerte nicht mit den histologischen Prozentwerten übereinstimmen. So deutet beispielsweise ein UDF-Wert von

25–30% auf das Vorhandensein einer bereits schweren histologischen Fibrose hin, was histologisch jedoch >66% Fetthepatozyten entspricht. Andere Methoden quantifizieren die akustische Dämpfung und drücken die Werte in dB/m aus [12, 13], wobei die Werte im Bereich von etwa 150–300 dB/m liegen oder verwenden dB/cm-MHz [8] mit Werten, die zwischen 0,5–1,5 dB/cm-MHz liegen. Wiederum andere verwenden Ultraschall-Geschwindigkeits-schätzungen, die in mm/Mikrosekunden gemessen werden, wobei die Werte gewöhnlich im Bereich zwischen 1500–1600 mm/Mikrosekunden liegen [14]. Somit sind die Methoden zur Quantifizierung des Leberfetts äußerst vielfältig. Höchstwahrscheinlich werden sie nicht austauschbar sein, um den klinischen Anforderungen gerecht zu werden, und vorzugsweise sollte jede der Techniken evidenzbasiert sein.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Bedarf an einer Ultraschall-Quantifizierung des Leberfettgehalts derzeit begrenzt ist, auch in Anbetracht der Leistungsfähigkeit der aktuellen Methoden. In Zukunft könnten diese jedoch stark nachgefragt werden, und die Ultraschall-Community und die Industrie sollten darauf vorbereitet sein.

Conflict of Interest

Prof. Fabio Piscaglia received honoraria from Astrazeneca, Bayer, Bracco, EISAI, Esaote, Exact Sciences, IPSEN, MSD, Roche, Samsung, Siemens Healthineers for participating in advisory board or sponsored symposia. Prof. Vito Cantisani received lecture fees from Bracco and Samsung in the last three years. Other authors declare no conflict of interest.

References

- [1] Eslam M, Newsome PN, Sarin SK et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol* 2020; 73 (1): 202–209
- [2] Vitale A, Svegliati-Baroni G, Ortolani A et al. Epidemiological trends and trajectories of MAFLD-associated hepatocellular carcinoma 2002–2033: the ITA.LI.CA database. *Gut* 2023; 72 (1): 141–152
- [3] Ferri S, Stefanini B, Mulazzani L et al. Very Low Alcohol Consumption Is Associated with Lower Prevalence of Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients* 2022; 14 (12): 2493
- [4] Brunt EM, Clouston AD, Goodman Z et al. Complexity of ballooned hepatocyte feature recognition: Defining a training atlas for artificial intelligence-based imaging in NAFLD. *J Hepatol* 2022; 76 (5): 1030–1041
- [5] Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16 (42): 5286–5296
- [6] Bauer DJ, Matic V, Mare R et al. Point Shear Wave Elastography by ElastPQ for Fibrosis Screening in Patients with NAFLD: A Prospective, Multicenter Comparison to Vibration Controlled Elastography. *Ultraschall in Med* 2022. doi:10.1055/a-1724-7289
- [7] Ferraioli G, Berzigotti A, Barr RG et al. Quantification of Liver Fat Content with Ultrasound: A WFUMB Position Paper. *Ultrasound Med Biol* 2021; 47 (10): 2803–2820
- [8] Labyed Y, Milkowski A. Novel Method for Ultrasound-Derived Fat Fraction Using an Integrated Phantom. *J Ultrasound Med* 2020; 39 (12): 2427–2438. doi:10.1002/jum.15364. Epub 2020 Jun 11. PMID: 32525261
- [9] Pericàs JM, Tacke F, Anstee QM et al. Platform trials to overcome major shortcomings of traditional clinical trials in non-alcoholic steatohepatitis? Pros and cons. *J Hepatol* 2023; 78 (2): 442–447

- [10] 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
- [11] 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* 2022; S1542-3565(22)00646-2 doi:10.1016/j.cgh.2022.06.013
- [12] Petta S, Maida M, Macaluso FS et al. The severity of steatosis influences liver stiffness measurement in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2015; 62 (4): 1101–1110. doi:10.1002/hep.27844
- [13] Petta S, Wong VW, Cammà C et al. Improved noninvasive prediction of liver fibrosis by liver stiffness measurement in patients with nonalcoholic fatty liver disease accounting for controlled attenuation parameter values. *Hepatology* 2017; 65 (4): 1145–1155. doi:10.1002/hep.28843
- [14] Dioguardi Burgio M, Imbault M, Ronot M et al. Ultrasonic Adaptive Sound Speed Estimation for the Diagnosis and Quantification of Hepatic Steatosis: A Pilot Study. *Ultraschall in Med* 2019; 40 (6): 722–733