

DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE LA FIBROSIS HEPÁTICA MEDIANTE MARCADORES SÉRICOS DIRECTOS (ELF)

Detección precoz de la enfermedad hepática crónica en población adulta aparentemente sana en atención primaria

Llorenç Caballería* y Pere Torán

Unitat de Suport a la Recerca Metropolitana Nord, IDIAP Jordi Gol, CIBERehd, Mataró, Barcelona, España

PALABRAS CLAVE

Fibrosis hepática;
Cirrosis hepática;
Hígado graso no
alcohólico;
Ecografía abdominal;
Atención primaria;
No invasivo;
Elastografía;
Fibroscan

Resumen Las enfermedades hepáticas son muy prevalentes y constituyen un problema sanitario de gran magnitud, ya que evolucionan hacia formas severas. En los países occidentales, la cirrosis y el cáncer primitivo de hígado se encuentran entre las 10 primeras causas de muerte entre los adultos. Además, la inflamación crónica del hígado, independientemente de la etiología, se encuentra asintomática en la mayoría de los casos; ello implica que su diagnóstico se realiza cuando ésta se encuentra en fases avanzadas, muchas veces en situación de irreversibilidad y con pocas posibilidades de tratamiento. Por lo tanto, lo ideal sería identificar a los pacientes en fases iniciales de la inflamación crónica del hígado, lo cual permitirá incidir de manera efectiva en su historia natural, y detener o retrasar su evolución. Hasta ahora nos basamos en la alteración de las pruebas de función hepática, ya sea para conocer la etiología, así como, según el grado de afectación, la presencia de una enfermedad hepática, o bien a través de los hallazgos de la ecografía abdominal que sugieren la presencia de cambios sugestivos de hepatopatía crónica. Sin embargo, desde hace unos años se han diseñado unos métodos no invasivos, tanto marcadores serológicos (directos e indirectos) de fibrosis como radiológicos (especialmente la elastografía) basados en la medición de la elasticidad hepática, que permiten cuantificar de forma no invasiva el grado de tejido fibroso presente en el hígado. Por ello, la utilización de métodos no invasivos puede ser una herramienta muy útil para la detección precoz de enfermedades hepáticas.

© 2012 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: lcaballeria.bnm.ics@gencat.cat
(L. Caballería).

KEYWORDS

Liver fibrosis;
Liver cirrhosis;
Nonalcoholic fatty
liver;
Abdominal ultrasound;
Primary care;
Noninvasive;
Elastography;
Fibroscan

Early detection of chronic liver disease in primary care in the apparently healthy adult population

Abstract Liver diseases are highly prevalent and are a major health problem as they progress to more severe forms. In the west, cirrhosis and primitive liver cancer are among the first 10 causes of death in adults. Moreover, chronic liver inflammation, irrespective of cause, is usually asymptomatic. Consequently diagnosis tends to be established when the disease is in the advanced stages and is thus irreversible and with few treatment possibilities. Therefore, ideally, diagnosis would be established in the initial phases of chronic liver inflammation, which would allow the natural history of the disease to be altered by either halting or delaying progression. To date, physicians have been guided by alterations in liver function tests to identify the etiology of liver disease or-depending on the severity of involvement-the presence of liver disease. Abdominal ultrasound findings can also reveal alterations suggesting the presence of chronic liver disease. However, in the last few years, noninvasive methods have been designed. These include serological markers (direct and indirect) of fibrosis and radiological tests (especially elastography) based on measuring liver elasticity, which allow noninvasive quantification of the degree of fibrous tissue in the liver. The use of noninvasive methods may be highly useful in the early detection of liver diseases.

© 2012 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La cirrosis hepática es una enfermedad muy frecuente en España y, además, constituye una causa importante de ingresos hospitalarios y consumo de recursos sanitarios debido a las complicaciones que se producen en las fases avanzadas de la enfermedad. Además, la cirrosis es la causa más frecuente de trasplante hepático en nuestro país. Por otra parte, la cirrosis hepática se complica a menudo con hepatocarcinoma, el cáncer primario de hígado, que es una causa frecuente de muerte y de trasplante hepático en nuestro país. En los países occidentales, la cirrosis y el cáncer primario de hígado se encuentran entre las primeras 10 causas de muerte en adultos^{1,2}.

La cirrosis hepática es consecuencia de una inflamación crónica de larga evolución que produce destrucción de los hepatocitos y acumulación progresiva de colágeno en el tejido hepático, lo cual resulta en la formación de fibrosis y los nódulos de regeneración característicos de la enfermedad³. Hay varias causas de inflamación crónica que pueden llevar a la cirrosis hepática. Las más prevalentes en nuestro medio son la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC); la infección crónica por el virus de la hepatitis B (VHB), cuya frecuencia ha aumentado mucho en relación con la inmigración; el consumo excesivo de alcohol, y la esteatohepatitis no alcohólica, asociada a menudo a obesidad y síndrome metabólico^{4,5}.

La inflamación crónica del hígado, sea cual sea su causa, es asintomática en la inmensa mayoría de los casos, lo que determina que el diagnóstico de la enfermedad no se haga hasta fases muy avanzadas de la historia natural, cuando los pacientes ya tienen una cirrosis, situación en la que la enfermedad es irreversible y el tratamiento del factor etiológico difícil o imposible. Por lo tanto, la estrategia ideal para la reducción de la morbimortalidad de la cirrosis hepática y el

cáncer primario de hígado sería identificar a los pacientes en fases iniciales de la inflamación crónica del hígado, lo que permitiría incidir de manera efectiva en su historia natural y detener o retrasar su evolución. La mayor dificultad hasta el momento actual ha sido el hecho de no disponer de medios efectivos de cribado para detectar todas las causas de inflamación hepática crónica en fase poco avanzada⁶.

En este sentido, las enfermedades hepáticas son muy frecuentes en las consultas de los centros de atención primaria y, a menudo, se diagnostican a través de la alteración de las pruebas de función hepática al practicar una analítica para un examen de salud rutinario o bien, ante un paciente con factores de riesgo, al detectar una hepatomegalia en la exploración física o ante la presencia de alteraciones radiológicas al practicar una ecografía abdominal por cualquier motivo.

La determinación de las transaminasas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), y otras enzimas hepáticas, γ-glutamil transpeptidasa (GGT) y fosfatasa alcalina (FA), se incluye de forma sistemática en el estudio de pacientes con sospecha de enfermedad hepática, si bien cada vez es más habitual solicitar la determinación de las transaminasas de forma sistemática ante la sospecha de pacientes con clínica de enfermedades no hepáticas, e incluso en pacientes con molestias leves e inespecíficas. Estos hechos llevan al escenario habitual en las consultas de los centros de salud de primaria de pacientes asintomáticos con una alteración de las enzimas hepáticas. Se ha estimado que las alteraciones de la función hepática pueden ocurrir entre un 1 y un 4% de la población asintomática^{7,8}. Ante estos hallazgos hemos de indagar si los pacientes presentan una enfermedad hepática, ya que un correcto estudio de estos pacientes puede conducir al diagnóstico de enfermedades hepáticas graves en fases iniciales, ser un estímulo para el abandono de hábitos no saludables (consumo excesivo de alcohol, medicamentos, drogas,

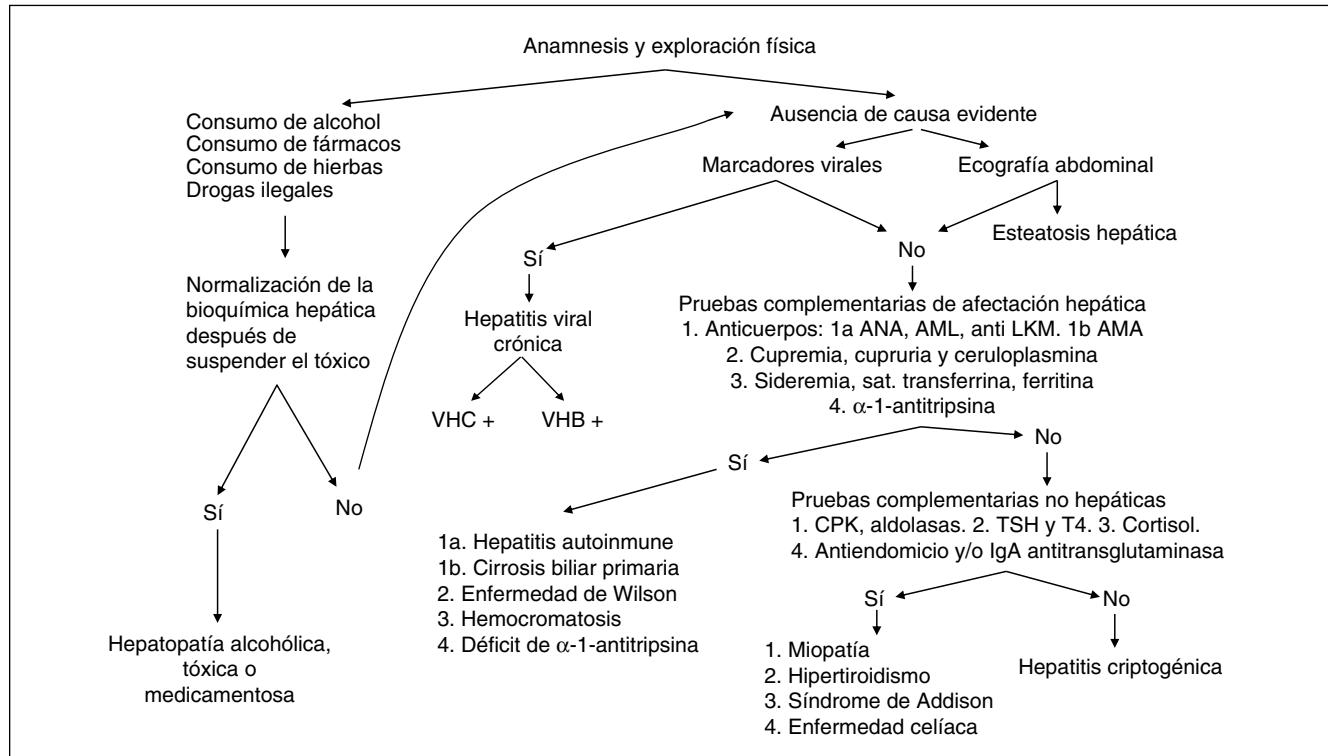


Figura 1 Detección precoz de las hepatopatías crónicas. VHB: virus de la hepatitis B; VHC: virus de la hepatitis C.

etc.) y establecer el diagnóstico de enfermedades no hepáticas con tratamientos eficaces.

Para ello, los requisitos fundamentales son: confirmar el diagnóstico, establecer la etiología, establecer el grado de afectación y/o pronóstico y, por último, derivar para tratamiento (fig. 1).

Confirmar el diagnóstico

Para confirmar el diagnóstico nos basamos en la historia clínica, la exploración física, las pruebas de función hepática y la ecografía abdominal.

Historia clínica

En relación con la historia clínica, nos basamos principalmente en los antecedentes familiares de enfermedad hepática (hemocromatosis, déficit de α_1 antitripsina, enfermedad de Wilson), factores de riesgo de hepatitis virales (uso de drogas por vía parenteral, hemoderivados, conducta sexual de riesgo, tatuajes/piercing), exposiciones ocupacionales, antecedentes personales de trastornos autoinmunes y comorbilidades, como obesidad, dislipemia, diabetes y consumo de alcohol, fármacos, productos derivados de hierbas o drogas ilegales.

Exploración física

La exploración física consiste básicamente en la existencia de hepatomegalia y/o esplenomegalia, presencia de los de-

nominados estigmas de hepatopatía crónica, determinación del peso, talla, índice de masa corporal (IMC) y presión arterial.

Pruebas de función hepática

En nuestro medio de trabajo disponemos de bastantes pruebas de función hepática que nos permiten llegar a un diagnóstico de certeza. De manera que, aparte de las pruebas de función hepática básicas, podemos determinar los marcadores virales, a excepción del ARN del VHC, en caso de positividad del VHC, la carga viral y el genotipo, los anticuerpos antitisulares y las inmunoglobulinas, el metabolismo del cobre y del hierro, el déficit de α_1 -antitripsina, así como las pruebas complementarias no hepáticas para el diagnóstico de enfermedades no relacionadas con el hígado y que cursan con las transaminasas alteradas (creatina fosfocinasa [CPK], aldolasas, estudio del tiroides, cortisol, las IgA antitransglutaminasa y los anticuerpos antiendomio)⁹.

Ecografía abdominal

La ecografía abdominal constituye una prueba complementaria de gran utilidad por su fácil realización, bajo coste, gran rendimiento diagnóstico, no precisa ninguna preparación especial por parte del paciente y además es incruenta. De manera que es la exploración fundamental que debe solicitarse ante todo paciente con una probable patología abdominal.

Establecer la etiología

Consumo de alcohol

El consumo de alcohol es una de las principales causas de hepatopatía crónica. Para descartar su consumo, nos basaremos en la entrevista personal y, en caso de duda, en los familiares más directos, los cuestionarios (CAGE, AUDIT), elevación de la GGT y del volumen corpuscular medio de los hematíes y la alcoholuria.

Hepatopatía tóxica y medicamentosa

La mayoría de los fármacos tiene un potencial hepatotóxico. Entre ellos cabe destacar, por su frecuente utilización en nuestras consultas, los antiinflamatorios, algunos antibióticos, estatinas, antiepilepticos y tuberculostáticos. Para ello se debe interrogar de forma minuciosa acerca de los fármacos que toma y, muy especialmente, sobre la toma de fármacos no prescritos. También debe interrogarse acerca del consumo de preparados derivados de hierbas, así como del consumo de ciertas drogas ilegales.

Marcadores virales

Las hepatitis crónicas por el VHC y VHB son una de las causas más frecuentes de alteración de las transaminasas, estimándose que entre un 1 y un 2% de la población española está infectada por el VHC, y entre un 0,1 y un 0,2% son portadores del VHB¹⁰. Para ello es necesario solicitar el anticuerpo del VHC y para el diagnóstico del VHB se solicitará el antígeno de superficie, el anticuerpo de superficie y el anticuerpo del core.

Hígado graso no alcohólico

Una de las principales causas de elevación crónica de las transaminasas en los países occidentales y, especialmente, en nuestro país es el hígado graso no alcohólico (HGNA). Habitualmente, ante un paciente con aumento de las transaminasas se le practica una ecografía abdominal donde a menudo se observa una esteatosis hepática. Es una enfermedad muy prevalente, tal y como se demostró en un estudio realizado en nuestro país, donde la prevalencia por criterios eco-gráficos fue del 25,8%¹¹, similar a la encontrada en otros países, donde la prevalencia está entre el 20-30%. Además, los factores de riesgo relacionados con ésta fueron los diferentes componentes del síndrome metabólico (obesidad, diabetes, dislipemia, hipertensión arterial), de manera que su detección desde las consultas de atención primaria es fundamental para incidir sobre estos factores de riesgo y evitar su evolución a formas más severas, como esteatohepatitis y, en algunos casos, hasta la cirrosis hepática. Además, cada vez hay más evidencias de la relación entre el HGNA y el riesgo cardiovascular, de manera que su detección y seguimiento no sólo sirve para evitar la progresión de la enfermedad hepática, sino también para evitar episodios cardiovasculares¹².

Causas hepáticas poco frecuentes

Si a pesar de todas estas determinaciones no se llega a un diagnóstico etiológico es necesario hacer determinaciones

serológicas específicas: anticuerpos antitisulares (ANA, AML, anti-LKM, AMA) y estudio de las inmunoglobulinas (IgG, IgM) para el diagnóstico de hepatopatía autoinmune o cirrosis biliar primaria; estudio del metabolismo del hierro (sideremias, ferritina e índice de saturación de la transferrina) para el diagnóstico de hemocromatosis, que es una de las enfermedades de causa genética más frecuente y que en caso de confirmación se deberían estudiar los genes C282Y/H63D en el HFE del cromosoma 6; estudio del metabolismo del cobre (ceruloplasmina, cupremia y cupruria) para el diagnóstico de enfermedad de Wilson y determinación del déficit de α-antitripsina¹³.

Causas extrahepáticas

Enfermedades que cursan con alteración de la función hepática. Entre ellas cabe destacar la CPK y las aldolasas que están alteradas en las miopatías, tanto congénitas como adquiridas; la T4 y la TSH responsable de las enfermedades tiroideas; la determinación del cortisol plasmático cuya alteración es la causante de la enfermedad de Addison; los anticuerpos IgA antitransglutaminasa tisular y los anticuerpos antiendomioicio para el diagnóstico de la enfermedad celíaca del adulto¹⁴.

Establecer el grado de afectación y/o pronóstico

Ya se ha comentado que las enfermedades crónicas del hígado se caracterizan por el acúmulo progresivo de la fibra colágena, la aparición de los nódulos de regeneración y el incremento de la presión portal. La fibrosis hepática es un proceso altamente dinámico y potencialmente reversible¹⁵. La manera de determinar el grado de fibrosis puede ser mediante métodos tanto invasivos como no invasivos (fig. 2). Los métodos invasivos (biopsia hepática, determinación del gradiente de presión venosa hepática) en los centros de salud no se encuentran disponibles. Los métodos no invasivos están limitados. A menudo consisten en la alteración de las pruebas de función hepática que, según el grado de afectación, sugieren la presencia de una enfermedad hepática evolucionada como plaquetopenia, tiempo de protrombina prolongado, hipoalbuminemia e hiperbilirrubinemia, entre otras. También puede ser a través de los hallazgos de la ecografía abdominal que sugieren la presencia de cambios sugestivos de hepatopatía crónica (hígado con contornos irregulares, dilatación de la vena porta, esplenomegalia, etc.). Sin embargo, en los últimos años se ha fomentado la búsqueda, validación y utilización de métodos no invasivos que permitan cuantificar la fibrosis hepática. Entre ellos cabe destacar los marcadores séricos (directos e indirectos) de fibrosis y los métodos radiológicos (elastografía hepática transitoria), que han demostrado su utilidad en el seguimiento de las enfermedades crónicas del hígado¹⁶.

Métodos no invasivos serológicos indirectos

Los marcadores séricos indirectos están constituidos por marcadores bioquímicos de inflamación y función hepática, y son fáciles de obtener en la práctica clínica. Si bien estos marcadores no se relacionan directamente con el proceso

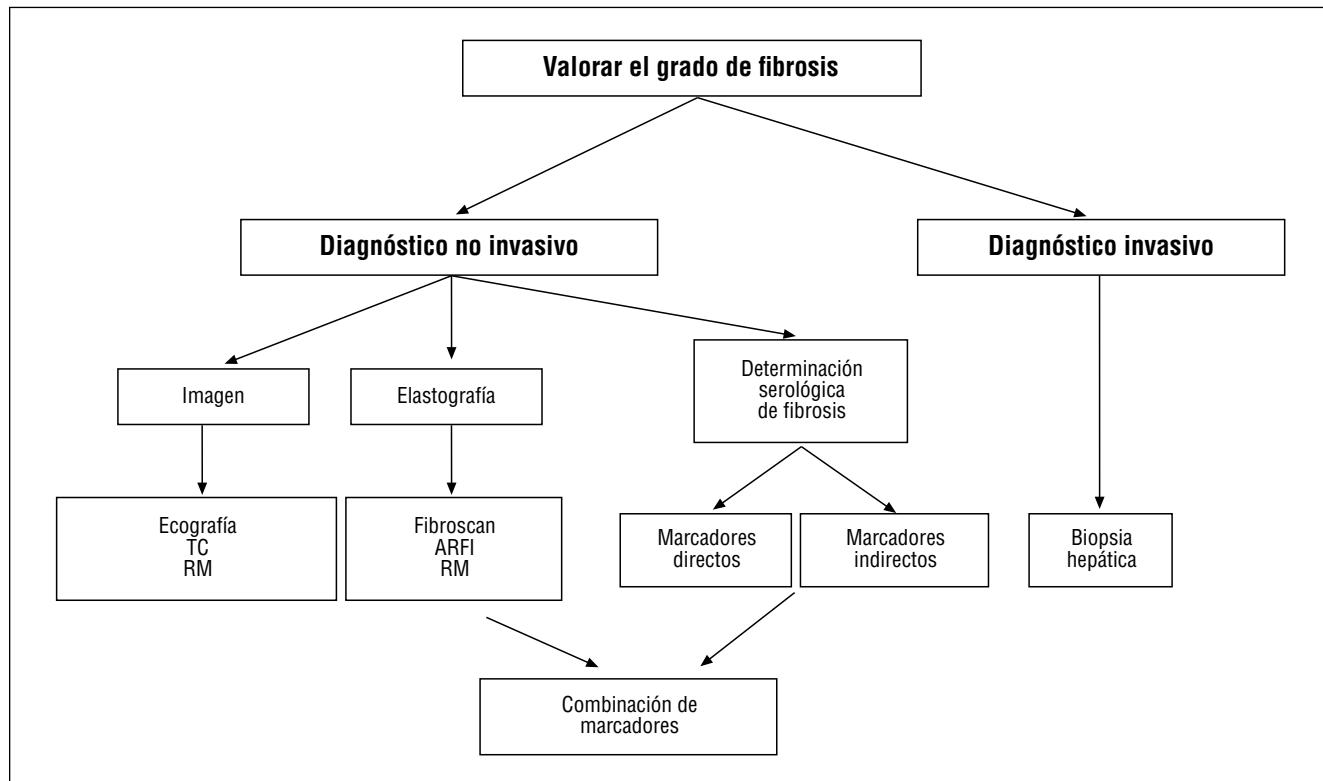


Figura 2 Diagnóstico de fibrosis.

de fibrosis hepática sí que pueden identificar con precisión a pacientes con enfermedad avanzada. Hay modelos sencillos que combinan variables clínicas, como la edad o el IMC, con determinaciones de laboratorio, como la cifra de plaquetas, AST, ALT, GGT, gammaglobulinas o el colesterol¹⁷, y modelos más complejos como el Fibrotest^{®18}, que combina GGT, bilirrubina, α -2-macroglobulina, haptoglobina y apolipoproteína A1. Estos índices en su conjunto permiten clasificar correctamente entre el 30-50% de los pacientes sin necesidad de practicar una biopsia hepática, si bien su fiabilidad es baja para diferenciar estadios de fibrosis intermedios. Estos marcadores han sido ampliamente evaluados en pacientes con hepatopatía crónica por el virus C, si bien también se han evaluado en otras patologías como la hepatitis crónica por el virus B y el HGNA. En este sentido, a través del estudio llevado a cabo sobre prevalencia del HGNA y del cual ya se ha hecho referencia¹¹, quisimos comprobar cómo se comportaban algunos de estos índices tanto para el diagnóstico como para evaluar la progresión del HGNA. Así, para el diagnóstico de HGNA se evaluaron los índices *fatty liver index*¹⁹, formado por triglicéridos, IMC, GGT y el perímetro abdominal; *lipid accumulation product*²⁰, triglicéridos y el perímetro abdominal; índice HAIR²¹, hipertensión, resistencia a la insulina y ALT > 40 UI/l, presentando una alta prevalencia, y se mostraron como marcadores independientes asociados al diagnóstico de HGNA. Entre los índices pronósticos se estudiaron el APRI²²: cociente AST/plaquetas; cociente AST/ALT²³; BAAT²⁴: IMC, edad, ALT y triglicéridos; BARD²⁵: IMC, cociente AST/ALT y diabetes tipo 2; FIB-4²⁶: edad, AST, plaquetas y ALT; índice Forns²⁷:

edad, GGT, colesterol y plaquetas. Estos índices se relacionaron positiva y significativamente con el HGNA, a excepción del FIB-4 (resultados no publicados).

El Fibrotest[®] es un índice muy validado y muestra una gran utilidad diagnóstica, pero tiene el inconveniente de incluir 3 parámetros proteicos, como, α -2-macroglobulina, haptoglobina y apolipoproteína A1, que son determinaciones con un coste elevado y no se encuentran disponibles en la mayoría de los laboratorios de referencia de los centros de salud. Además, dicho índice, junto con el Hepascore^{®28} o el Fibrometer^{®29}, está protegido por una patente y su disponibilidad todavía está más limitada. Poinard et al llevaron a cabo un interesante estudio en 7.482 sujetos aparentemente sanos mediante la aplicación del Fibrotest[®], y encontraron una prevalencia de fibrosis y cirrosis hepática en el 2,8 y 0,3%, respectivamente³⁰.

Métodos no invasivos serológicos directos

Los marcadores séricos directos están constituidos por proteínas implicadas en la síntesis y degradación de la matriz extracelular que regulan el proceso de fibrogénesis y fibrólisis. Entre los marcadores más utilizados y que han demostrado su eficacia para identificar fibrosis en diferentes patologías se encuentra el ácido hialurónico (AH), que es una proteína de la matriz extracelular, enzimas de degradación de las metaloproteínasas y sus inhibidores (TIMP) y proteínas implicadas en la síntesis del colágeno como el procolágeno III (PIIINP). Al igual que ocurre con los marcadores séricos indirectos, la combinación en modelos aumenta su

fiabilidad diagnóstica. La combinación de AH, TIMP-1 y PIIINP se conoce como ELF® (*enhanced liver fibrosis*)³¹, que ha demostrado una elevada fiabilidad para identificar fibrosis y progresión de la enfermedad en pacientes con hepatopatía crónica por virus C, HGNA y cirrosis biliar primaria, y puede clasificar correctamente hasta el 65% de los pacientes sin necesidad de practicar la biopsia hepática. La posibilidad de determinar estos marcadores a los pacientes con alteración persistente de las transaminasas sería muy interesante porque nos permitiría identificar a los pacientes con un grado de fibrosis más o menos importante. A pesar de su importancia, hoy por hoy, dicho índice es difícil de aplicar en los laboratorios de referencia de los centros de salud de primaria debido a que no están incluidos en su catálogo de pruebas. Otra posibilidad sería determinar alguno de estos marcadores de forma individual, ya que tal vez mejoraría la posibilidad de su utilización, si bien tampoco se encuentran incluidos en dicho catálogo. En este sentido es interesante un reciente estudio llevado a cabo en 172 pacientes con HGNA, donde el PIIINP permitió diferenciar entre los pacientes con esteatosis simple de aquellos con esteatohepatitis o fibrosis avanzada³².

Métodos no invasivos radiológicos

Desde hace pocos años existe un método no invasivo que se basa en la medición de la elasticidad hepática, llamado elastografía hepática transitoria, y que permite estimar de forma no invasiva el grado de tejido fibroso presente en el hígado, lo que podría permitir detectar de forma no invasiva la existencia de una fibrosis hepática significativa antes de que el paciente desarrollara una cirrosis o de que la cirrosis produzca síntomas³³.

El FibroScan®, nombre del aparato que realiza la elastografía, mide la elasticidad hepática de un cilindro de aproximadamente 1 cm de diámetro por 4 cm de longitud, el cual es 100 veces mayor que la muestra obtenida por biopsia y, por lo tanto, es mucho más representativo de la totalidad del parénquima hepático³⁴. Este sistema se utiliza ya con éxito para la evaluación de la fibrosis en pacientes con infección crónica conocida por el VHC³⁵, en donde estudios extensos y diversos metaanálisis sugieren valores en torno a 7,6 y 14,6 kPa para identificar fibrosis significativa y cirrosis, respectivamente. La información acerca de su utilidad para la evaluación de la fibrosis en la infección crónica por el VHB³⁶, esteatohepatitis³⁷, esteatosis hepática no alcohólica³⁸, enfermedad hepática alcohólica³⁹ y enfermedades de otra etiología es más escasa, pero cada vez hay más datos que apuntan en esta dirección⁴⁰.

Sin embargo se dispone de escasa información sobre la utilidad de la elastografía hepática transitoria en población adulta aparentemente sana como método diagnóstico para la presencia de enfermedad hepática⁴¹. Ya se ha comentado que la inflamación crónica del hígado es asintomática en la inmensa mayoría de los casos y se diagnostica en fases avanzadas; por ello, la utilización de métodos diagnósticos no invasivos puede identificar estos casos con fibrosis hepática o cirrosis en la población general, y ayudar a establecer el diagnóstico precoz y poder ser tratados. Recientemente se han publicado los resultados de un estudio poblacional en 1.358 sujetos de edad superior a 45 años, aparentemen-

te sanos, que fueron sometidos a la práctica de una elastografía. De éstos, 89 presentaron un valor de la elastografía > 8 kPa, valor que estos autores en un estudio previo habían considerado como responsable de la presencia de enfermedad hepática, lo que representa una prevalencia del 7,5% de sujetos con fibrosis y un 0,7% con cirrosis⁴². Un dato interesante de este estudio es que el 43% de los 89 pacientes tenía un valor normal de GGT, AST y ALT mientras que el 4,2% de los sujetos con alteración de la GGT y del cociente AST/ALT tenía un valor de la elastografía < 8 kPa. Esto puede sugerir que la elastografía hepática sea un método diagnóstico de screening mejor para el diagnóstico de la enfermedad hepática que la determinación rutinaria de las pruebas de función hepática. Por otra parte, la etiología más frecuente de alteración de la elastografía en estos pacientes fue la esteatosis hepática no alcohólica, que estuvo presente en el 58,4%. En todos los casos que se practicó la biopsia se encontró un valor de fibrosis entre F1-F2, y en algunos de ellos con un valor normal de las transaminasas.

Por ello, la utilización de métodos no invasivos, ya sean serológicos o radiológicos, o bien una combinación de ambos, que como se ha observado en diferentes estudios mejora el rendimiento diagnóstico y pronóstico⁴³, puede ser una herramienta muy útil para la detección precoz de enfermedades hepáticas.

Por tanto, podemos concluir que las enfermedades hepáticas moderadas son muy frecuentes, muchas veces asintomáticas y frecuentemente no se investigan con la misma intencionalidad que otras patologías. Por ello son necesarias campañas para sensibilizar de su importancia a los profesionales de atención primaria. Los métodos disponibles en atención primaria permiten la detección y el diagnóstico etiológico de las enfermedades hepáticas más frecuentes. Los métodos no invasivos disponibles en atención primaria para establecer el grado de lesión son limitados y sólo permiten distinguir las formas avanzadas. Es necesario diseñar índices diagnósticos y pronósticos basados en los parámetros clínicos y analíticos disponibles en atención primaria, o bien efectuar estudios en población general con los métodos actuales cuyos resultados justifiquen su implantación en dichos centros.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Fleming KM, Aithal GP, Solaymani-Dodaran M, Card TR, West J. Incidence and prevalence of cirrhosis in the United Kingdom, 1992-2001: a general population-based study. *J Hepatol*. 2008;49:732-8.
2. Kim WR, Brown RS Jr, Terrault NA, El-Serag H. Burden of liver disease in the United States: summary of a workshop. *Hepatology*. 2002;36:227-42.
3. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet*. 2008;371:838-51.
4. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40:1387-95.

5. Adams LA, Lymp JF, St. Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129:113-21.
6. Martinez SM, Crespo G, Navasa M, Forns X. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Hepatology*. 2011;53:325-35.
7. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med*. 2000;342:1266-71.
8. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician*. 2005;71:1105-10.
9. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ*. 2005;172:367-79.
10. Moreno A, González L, Mendoza-Jiménez J, García-Buey L, Moreno R. Utility of analytical parameters in the diagnosis of liver diseases. *An Med Intern*. 2007;24:38-46.
11. Caballería LL, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, et al. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010;22:24-32.
12. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010;363:1341-50.
13. American Gastroenterological Association Medical Position Statement: evaluation of liver chemistry tests. *Gastroenterology*. 2002;123:1364-6.
14. Goessling W, Friedman LS. Increased liver chemistry in an asymptomatic patient. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3:852-8.
15. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008;134:1655-69.
16. Nguyen D, Talwalkar JA. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Hepatology*. 2011;53:2107-10.
17. Carrión JA. Evaluación de la fibrosis asociada a la enfermedad hepática. *Gastroenterol Hepatol*. 2012;35:38-45.
18. Imbert-Bismut F, Razi V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*. 2001;357:1069-75.
19. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006;6:33.
20. Bedogni G, Kahn HS, Bellentani S, Tiribelli C. A simple index of lipid overaccumulation is a good marker of liver steatosis. *BMC Gastroenterol*. 2010;10:98.
21. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brian PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001;121:91-100.
22. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalfleisch JD, Martero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple non-invasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-26.
23. Williams AL, Hoofnagle JH. Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferase in chronic hepatitis. Relationship to cirrhosis. *Gastroenterology*. 1988;95:734-9.
24. Razi V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology*. 2000;118:1117-23.
25. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut*. 2008;57:1441-7.
26. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhaliuin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. Comparison with liver biopsy and FibroTest. *Hepatology*. 2007;46:32-6.
27. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martínez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002;36:986-92.
28. 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;51:1867-73.
29. Cales P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konate A, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology*. 2005;42:1373-81.
30. Poynard T, Lebray P, Ingiliz, Varaut A, Varsat B, Ngo Y, et al. Prevalence of liver fibrosis and risk factors in a general population using non-invasive biomarkers (FibroTest®). *BMC Gastroenterol*. 2010;10:40.
31. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. for European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2004;127:1704-13.
32. Tanwar S, Trembling PM, Guha IN, Parkers J, Kaye P, Burt AD, et al. Validation of PIIIINP for the detection and assessment of non-alcoholic steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012. doi:10.1002/hep.26030.
33. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;4:48-54.
34. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 2003;29:1705-13.
35. Castera L. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatol Int*. 2011;5:1511-7.
36. Vigano M, Paggi S, Lampertico P, Franquelli M, Massironi S, Ronchi G, et al. Dual cut-off transient elastography to assess liver fibrosis in chronic hepatitis B: a cohort study with internal validation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34:353-62.
37. Yoneda M, Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Endo H, Lida H, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Liver Dis*. 2008;40:371-8.
38. Wong WW, 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;51:454-62.
39. Nahon P, Kettaneh A, Tengher-Barna I, Ziol M, De Lédinghen V, Douvin C, et al. Assessment of liver fibrosis using transient elastography in patients with alcoholic liver diseases. *J Hepatol*. 2008;49:1062-8.
40. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol*. 2008;48:835-47.
41. Del Poggio P, Colombo S. Is transient elastography a useful tool for screening liver disease? *World J Gastroenterol*. 2009;28:1409-14.
42. Roulot D, Costes JL, Buyck JF, Warzocha U, Gambier N, Czernichow S, et al. Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years. *Gut*. 2011;60:977-84.
43. Verniol J, Focher J, Terrebonne E, Bernard PH, Le Bail B, Merrouche W, et al. Noninvasive tests for fibrosis and liver stiffness predict 5-year outcomes of patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2011;140:1970-9.