



Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



XXXIV CONGRESO ANUAL DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA PARA EL ESTUDIO DEL HÍGADO

Control de las variaciones en la fibrosis hepática

R. Solà Lamoglia*

Sección de Hepatología, Hospital del Mar, Barcelona, España

Introducción

La infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) produce una lesión hepática con inflamación y necrosis que se acompaña de procesos de reparación tisular con aparición de fibrosis y fenómenos de regeneración. Por ello, en la hepatitis crónica C (HC-VHC), la gravedad de la enfermedad hepática dependerá de la actividad necroinflamatoria del proceso y del grado de fibrosis desarrollado. Así, en las fases iniciales de la enfermedad, la fibrosis es leve o inexistente en más del 80% de los casos, mientras que en fases más avanzadas los pacientes presentan un mayor grado de fibrosis o la aparición de cirrosis. Debido a que, a partir de la infección, estos procesos no se producen con la misma intensidad y rapidez en los distintos pacientes, la gravedad de las lesiones anatomopatológicas difiere mucho de un paciente a otro en el momento del diagnóstico. Además, la evaluación de la progresión de las lesiones hepáticas resulta fundamental en el control de los pacientes con HC-VHC, independientemente de si han realizado tratamiento antivírico y del resultado de éste, ya que no se conoce con seguridad la evolución a largo plazo de las lesiones existentes en pacientes en los que se consiguió la erradicación del VHC. Revisaremos en este artículo los aspectos relacionados con el diagnóstico y el control de la fibrosis hepática en la HC-VHC mediante biopsia hepática y con otros métodos incruentos.

Evaluación de la fibrosis mediante biopsia hepática

Hasta hace poco tiempo, la única forma de conocer el grado de actividad necroinflamatoria y el grado de fibrosis en un paciente con HC-VHC era la práctica de una biopsia hepática por punción. Ello permite confirmar el diagnóstico y establecer la indicación o la necesidad del tratamiento antiviral, aunque creemos importante señalar que la mayoría de los documentos de consenso y las recomendaciones sobre el tratamiento de la HC-VHC coinciden en que la práctica de la biopsia no es imprescindible para iniciar el tratamiento¹⁻³. Además de las lógicas implicaciones pronósticas sobre la historia natural de la enfermedad, la gravedad las lesiones hepáticas en la HC-VHC constituye un aceptado factor predictivo de respuesta al tratamiento antiviral. Así, los resultados del tratamiento en sujetos con fibrosis avanzada o cirrosis son siempre peores que los obtenidos en pacientes con fibrosis leve⁴⁻⁶. Estos hechos justificarían la importancia de evaluar en cada caso el grado de fibrosis mediante la realización de una biopsia hepática antes de iniciar el tratamiento. Sin embargo, este hecho resulta menos relevante en pacientes con los genotipos 2 y 3, en los que el tratamiento antiviral alcanza unas altas tasas de curación. Independientemente de las ventajas descritas, la biopsia hepática permite también descartar la presencia de otros tipos de enfermedad hepática comunes en los pacientes con HC-VHC, entre los que destacan la esteatosis, las lesiones producidas por la ingesta de alcohol o la sobrecarga de hierro.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: 35783m@imas.imim.es (R. Solà Lamoglia).

Entre los inconvenientes de la biopsia hepática destacan la posibilidad de aparición de complicaciones, su carácter invasivo y los errores de muestreo. A pesar de que en los últimos años ha mejorado notablemente la técnica con que se realiza la biopsia hepática por punción, en especial debido al uso de nuevos dispositivos y a la posibilidad de control ecográfico, dicha exploración no está exenta de complicaciones. Entre ellas destacan la aparición de dolor en el 20-30% de los casos y complicaciones mayores en el 0,5%⁷. Además, el hecho de ser un método invasivo determina un lógico rechazo por parte del paciente. Por otra parte, la evaluación de diferentes patólogos del grado de fibrosis en una biopsia hepática no siempre coincide, incluso en distintas muestras de un mismo paciente⁸. Este hecho, ligado claramente al tamaño de la muestra de tejido obtenida⁹, se ha logrado minimizar mediante el uso de sistemas estandarizados de clasificación de la fibrosis. Estos aspectos se hacen todavía más relevantes al considerar la necesidad de evaluar de forma continuada la progresión de la fibrosis, ya que obligaría a la realización de varias biopsias en un mismo paciente.

Métodos incruentos de valoración de la fibrosis

Debido a los inconvenientes citados en el apartado anterior, se han descrito en los últimos años diferentes métodos incruentos de valoración de la fibrosis cuyo principal inconveniente radica en que su evaluación debe siempre realizarse con los datos obtenidos en la biopsia hepática, la cual continúa siendo, por tanto, el patrón de referencia a pesar de las limitaciones mencionadas con anterioridad. Dichos métodos son la elastografía transitoria, las técnicas de imagen y los métodos bioquímicos que usan marcadores serológicos, los cuales pueden clasificarse en los que utilizan marcadores directos o indirectos de fibrogenesis y los que incluyen parámetros biológicos comunes que se correlacionan con el grado de fibrosis. Con posterioridad se han publicado estudios en los que se analizan los polimorfismos de los genes implicados en la progresión de la fibrosis.

Técnicas de imagen

En la elastografía transitoria (FibroScan®) se utilizan ondas de ultrasonidos de 5 MHz cuya velocidad de propagación se correlaciona de forma directa con la elasticidad tisular, la cual se halla directamente relacionada con la fibrosis, de forma que cuanto mayor es la fibrosis del tejido hepático, menor es su elasticidad¹⁰. El método es sencillo, cómodo para el paciente, no precisa instalaciones especiales y permite ob-

tener valores cuantitativos que se correlacionan con el grado de fibrosis (velocidad $\geq 8,7$ kPa indica fibrosis ≥ 2 y velocidad $\geq 14,5$ indica presencia de cirrosis).

El método ha sido validado en numerosas cohortes y resulta muy eficaz en la predicción de fibrosis avanzadas. Entre sus inconvenientes destacaríamos el elevado coste del aparato (aproximadamente 70.000 euros) y las dificultades en la diferenciación entre pequeñas variaciones de fibrosis¹¹. Además, en ocasiones, la velocidad detectada no es uniforme en todo el parénquima, lo que puede deberse tanto a una distribución irregular de la fibrosis como a una técnica defectuosa. Finalmente, la reproducibilidad de la elastografía es menor en pacientes obesos, con esteatosis hepática y en los que presentan grados mínimos de fibrosis¹².

Recientemente se ha diseñado un programa informático de visualización interpolada que, aplicado a imágenes obtenidas mediante tomografía computarizada de hígado sin contraste, permite obtener una escala monotónica que separa los diferentes grados de fibrosis. El método ha sido validado en una cohorte externa y ha alcanzado áreas bajo la curva (AUC) superiores a 0,86 al diferenciar grados de fibrosis $> F3$ ¹³. Entre las ventajas de este método destacaríamos el hecho de que no precisa de un utillaje especial, ya que se utilizan las imágenes de tomografía simple, lo que permite su análisis posterior e, incluso, a distancia.

Otras técnicas de imagen, como la ultrasonografía con bolos de microburbujas a través de las venas suprahepáticas¹⁴, la resonancia magnética espectroscópica¹⁵ hepática mediante P^{31} y la elastografía por resonancia magnética¹⁶ se han correlacionado también con el estadio de la fibrosis.

Marcadores de fibrogenesis

Estos métodos se basan en que la fibrosis hepática es una reacción local del hígado frente a una agresión crónica, por lo que los productos ligados a la fibrogenesis pueden ser detectados en el suero de los pacientes. Hay diferentes marcadores serológicos de fibrogenesis que pueden clasificarse en glucoproteínas como la tenascina, la laminina y el ácido hialurónico, los péptidos que forman la matriz colágena extracelular, la colágena VI o las metaloproteinasas, y finalmente, un grupo misceláneo de proteínas implicadas en los fenómenos de fibrogenesis, como el inhibidor tisular de las metaloproteinasas (TIMP-1) y el YKL-40. El ácido hialurónico resulta, en general, un buen marcador de cirrosis hepática y, por el contrario, una baja concentración de dicho ácido tiene un elevado valor predictivo para excluirla¹⁷. Las concentraciones séricas de colagenasas y sus inhibidores como el TIMP-1

han sido también utilizados para investigar la gravedad de la fibrosis. Finalmente, en varios estudios se ha confirmado que las citocinas profibrogénicas, como las concentraciones de TGF- β 1, son también útiles para la identificación de enfermos con fibrosis hepática avanzada. Otros autores han confirmado la eficacia de diferentes combinaciones de estos marcadores en la predicción de la fibrosis. Uno de ellos que combina la edad, el ácido hialurónico, la PIINP y la TIMP-1, alcanzó un elevado valor pronóstico, tanto en la predicción de fibrosis significativa como en la exclusión de ésta¹⁸. En otro estudio, el llamado Fibrospect II, que combina el ácido hialurónico, la alfa-2-macroglobulina y la TIMP-1, consiguió también resultados similares¹⁹.

Las limitaciones de los métodos descritos en este apartado estriban, como en otros casos, en su baja sensibilidad en las fases iniciales de la fibrosis, en que no son específicos de la fibrosis que se produce en la enfermedad hepática y en la dificultad ligada al hecho de que son parámetros más o menos complejos que no se utilizan en la práctica clínica sistemática.

Marcadores serológicos con pruebas sistemáticas

Las variables de uso común en la práctica clínica relacionadas con mayor frecuencia con la fibrosis son la edad, el recuento de plaquetas, la aspartatoamino-transferasa (AST) o el cociente AST/ALT, la gamma-glutamiltanspeptidasa (GGT), el colesterol, la actividad de la protrombina y la haptoglobina. En el desarrollo de los diferentes índices que combinan algunas de estas variables con la finalidad de predecir el grado de fibrosis se ha seguido, en general, una metodología similar. En primer lugar, se identifican

las variables con valor predictivo independiente de fibrosis en un análisis multivariable en una cohorte de pacientes. Con posterioridad se construyen los índices con la utilización de los coeficientes de regresión de cada variable predictora obtenidos en dichos análisis. Tras ello se evalúa la exactitud diagnóstica de los índices mediante construcción de curvas ROC (*receiver operator characteristic*) y se calculan los mejores valores de corte para identificar a los pacientes con ausencia o presencia de fibrosis significativa o cirrosis. Finalmente, es preciso efectuar la validación del índice de los valores de corte en una población diferente de pacientes. En la tabla I se exponen los principales índices descritos con sus correspondientes valores de predicción de la diferenciación entre fibrosis significativa y no significativa.

El índice de Forns²⁰ fue el primer índice predictivo de fibrosis descrito que utiliza parámetros serológicos sistemáticos y uno de los más ampliamente utilizados en la práctica clínica. Dicho índice, que combina edad, GGT, colesterol y plaquetas, alcanza un alto valor en la exclusión de fibrosis significativa (F2-F4), con un valor predictivo negativo del 96%. Sin embargo, el modelo no resulta tan eficaz en la predicción positiva de fibrosis significativa (valor predictivo positivo del 66%). El índice, conocido con el acrónimo APRI (*AST to platelet ratio index*)²¹, resulta todavía más simple, ya que se construye únicamente con el valor de la AST y el recuento de plaquetas. En el test de validación se obtuvo una AUC de 0,88 en la predicción de fibrosis significativa y del 0,94 en la predicción de cirrosis. Con dicho índice, utilizando los valores de corte apropiados, los autores confirmaron el diagnóstico de cirrosis en el 81% de los pa-

TABLA I Índices serológicos para evaluación de la fibrosis en la hepatitis crónica

Índice	Parámetros	Referencia	Área bajo la curva (F0-F1 frente a F2-F4)	
			Cohorte original	Cohorte validación
Forns	Plaquetas, GGT, edad, colesterol	Forns X et al ²⁰	0,81	0,70-0,77
APRI	AST, plaquetas	Wai CT et al ²¹	0,83	0,70-0,76
HALT-C	Plaquetas, protrombina (INR), AST, ALT	Lok AS et al ²²	0,78	0,81
FIB-4 (VIH)	Edad, plaquetas, AST, ALT	Sterling RK et al ²³	0,77	0,79
FIB-4	Edad, plaquetas, AST, ALT	Vallet-Pichard A et al ²⁴	0,78	0,77
FibroIndex	Plaquetas, AST, gamma-globulina	Koda M et al ²⁵	0,83	0,82
Fibrotest®	Alfa-2-microglobulina, haptoglobina, GGT, edad, bilirrubina, apoA1, sexo	Imbert-Bismut F et al ²⁶	0,84	0,87
Fibrometer	Plaquetas, protrombina, edad, urea, alfa-2-microglobulina, ácido hialurónico	Calès P et al ²⁷	0,88	0,89
Hepascore	Edad, sexo, alfa-2-microglobulina, ácido hialurónico, bilirrubina, GGT	Adams LA et al ²⁸	0,85-0,86	0,82-0,90

ALT: alaninoamino-transferasa; AST: aspartatoamino-transferasa; GGT: gammaglutamiltanspeptidasa; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

cientes. A partir de la cohorte del estudio HALT-C, en el que se incluyó a 1.141 pacientes con HC-VHC sin respuesta previa a un tratamiento antiviral, se diseñó un sencillo índice de predicción de cirrosis mediante los valores de la actividad de protrombina (INR), AST, ALT y el recuento de plaquetas²². Con él se obtuvieron valores de AUROC de 0,78 y 0,81 en los modelos basal y de validación. El valor predictivo negativo, o sea, la posibilidad de descartar la presencia de cirrosis en los pacientes con un índice inferior a 0,2 fue del 86%, mientras que el valor predictivo positivo (posibilidad de cirrosis) en los sujetos con un índice superior a 0,5 alcanzó el 75%. Por otra parte, y también a partir de una cohorte de pacientes de un gran estudio multicéntrico internacional (APRICOT) diseñado con el fin de investigar la eficacia del tratamiento con interferón pegilado $\alpha 2a$ y ribavirina en pacientes con HC-VHC coinfectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), se construyó el FIB-4, un índice simple que incluye la edad, los valores de AST y ALT, y el recuento de plaquetas²³. Dicho índice se validó con posterioridad en una población de pacientes monoinfectados y alcanzó valores de predicción negativa (ausencia de fibrosis significativa) del 95% y positiva (presencia de fibrosis significativa F3/F4) del 82%²⁴. Otro índice elaborado en Japón (FibroIndex) incluye el recuento de plaquetas y los valores de AST y gammaglobulinas²⁵. Según sus autores, dicho índice permite valorar de forma longitudinal las variaciones de la fibrosis, lo cual podría resultar útil para medir el efecto de un supuesto tratamiento de ésta.

Nos parece oportuno señalar que estos métodos serológicos deben utilizarse teniendo en cuenta los valores de corte idóneos para las predicciones que resultan más eficaces. Como puede observarse en la tabla II, determinados índices, como el de Forns, son mejores para descartar la presencia de una fibrosis significativa, mientras que otros, como el APRI o el HALT-C, resultan más útiles en la confirmación de la presencia de fibrosis avanzada y/o cirrosis.

Marcadores serológicos combinados

En este apartado se incluye una serie de índices que combinan parámetros serológicos sistemáticos con marcadores de fibrogénesis. El primero de los índices de este grupo fue el conocido con el nombre de Fibrotest®, de uso común en Francia y del que hasta 2001 no se conocían sus componentes, ya que se realizaba únicamente, de forma comercial, en determinados laboratorios a partir del envío de una muestra de sangre del paciente. La fórmula de dicho índice incluye edad, sexo, GGT, bilirrubina, alfa-2-microglobulina, haptoglobina y apolipoproteína A1²⁶. Los valores predictivos publicados de dicho índice son muy altos y alcanzan el 100% de predicción de ausencia de fibrosis y el 90% de presencia de fibrosis superior a F2. El Fibrometer, otro test similar también diseñado en Francia, incluye recuento de plaquetas, protrombina, edad, urea, alfa-2-microglobulina y ácido hialurónico²⁷. Dicho test consigue altos valores de predicción, tanto en hepatopatías de origen viral como de etiología alcohólica. Finalmente, el Hepascore, otro índice diseñado en Australia, combina la edad, sexo, alfa-2-microglobulina, ácido hialurónico, bilirrubina y GGT²⁸, y también alcanza altos valores predictivos de fibrosis en pacientes con hepatitis C.

Comparación de la eficacia de los métodos incruentos de valoración de la fibrosis

Se han publicado algunos estudios en los que se comparan algunos de los métodos descritos con el fin de evaluar su eficacia individual o conjunta en la predicción de la fibrosis. En uno de dichos estudios realizado en Francia en pacientes con HC-VHC²⁹ se concluye que con la elastografía (FibroScan®) se obtienen resultados similares a los logrados con el Fibrotest® y el APRI, aunque con el uso combinado de FibroScan® y Fibrotest® se obtienen los mejores resultados y se puede obviar la biopsia hepática en la mayoría de los casos.

TABLA II Valores de corte y valores predictivos de los diferentes índices serológicos de fibrosis que utilizan pruebas comunes de laboratorio

	Sin fibrosis significativa			Fibrosis significativa			Sin cirrosis		Cirrosis	
	Grado	Índice	VPN	Grado	Índice	VPP	Índice	VPN	Índice	VPP
Forns ²⁰	F0/F1	< 4,2	96%	F2/F4	> 6,9	66-79%	—	—	—	—
APRI ²¹	F0/F1	< 0,50	90%	F3/F4	> 1,50	91%	< 1	100%	> 2	65%
HALT-C ²²	F0/F1	—	—	—	—	—	< 0,2	86%	> 0,5	75%
FIB-4 ²⁴	F0/F1	< 1,45	95%	F3/F4	> 3,25	82%	—	—	—	—
FibroIndex ²⁵	F0/F1	< 1,25	—	F2/F3	> 2,25	—	—	—	—	—

VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo.

En otra comparación realizada en Bélgica se confirma la eficacia del FIB-4 en comparación con Fibrotest®, Forns, APRI i FibroIndex³⁰. Finalmente, en otro estudio publicado en forma de resumen³¹ se comparó la eficacia de diferentes métodos, como el índice de Forns, el índice APRI, el Fibroscan® y marcadores de matriz extracelular, los cuales se analizaron individualmente o en combinación. La mejor exactitud diagnóstica en la predicción de fibrosis con un grado superior a 2 se obtuvo mediante la combinación del APRI y el Fibroscan® (AUROC 0,88), mientras que la combinación del índice de Forns con el Fibroscan® obtenía un mayor rendimiento en la predicción de la cirrosis (F4) (AUROC 0,90).

Utilidad de los métodos incruentos de evaluación de la fibrosis en la práctica clínica

Los métodos descritos de evaluación incruenta de la fibrosis pueden resultar útiles en varios aspectos de la práctica clínica sistemática. En primer lugar, y como ya se ha comentado con anterioridad, pueden permitir la evaluación inicial del paciente en sustitución de la biopsia hepática. En segundo lugar, pueden utilizarse en el control periódico del paciente con la finalidad de evaluar si se produce progresión de la enfermedad. Esta situación puede ser relevante a la hora de tomar decisiones como, por ejemplo, un posible retratamiento de la hepatitis C. Finalmente, nos pueden ayudar a diagnosticar la presencia de cirrosis, situación que, además de su importancia en el pronóstico de la enfermedad, nos obliga a realizar otras exploraciones para la evaluación de la hipertensión portal y sus complicaciones, así como un control clínico más frecuente que permita el correcto cribado del carcinoma hepatocelular.

Evidentemente, y al igual que la propia biopsia hepática, estos métodos tienen claras limitaciones para conseguir los objetivos mencionados. En general, resultan muy eficaces en la diferenciación de los casos con poca o nula fibrosis (F0/F1) de los que la tienen en fases avanzadas (F3/F4), pero su eficacia disminuye en la distinción de grados más próximos de fibrosis. Por otra parte, pocos de dichos métodos han sido evaluados de forma longitudinal en un mismo paciente, por lo que su eficacia en la valoración de la progresión o una eventual regresión de la enfermedad no se ha demostrado. Finalmente, la mayoría de ellos se ha descrito en pacientes con HC-VHC y sólo algunos se han probado en hepatopatías de otras etiologías, con lo que las pruebas científicas disponibles en este sentido son todavía escasas.

Creemos importante señalar que, hoy en día, parece claro que el uso de uno o varios de dichos métodos

debería incorporarse paulatinamente a la práctica clínica sistemática y, por tanto, las futuras recomendaciones o documentos de consenso deben incluir la necesidad de su utilización con la finalidad, entre otras, de justificar las inversiones necesarias para su implementación en los distintos grupos de hepatología. Sin embargo, en el momento de decidir cuál o cuáles de dichos métodos utilizaremos en nuestra práctica clínica deben tenerse en cuenta algunas consideraciones. En primer lugar, y como puede deducirse de lo expuesto en los apartados anteriores, su efectividad y sus limitaciones resultan similares, aunque pueden mejorar mediante el uso combinado de más de uno de dichos métodos. En segundo lugar, hay notables diferencias en los costes económicos de los distintos métodos. El Fibroscan® tiene un elevado coste de adquisición y precisa de una persona que lo realice, aunque el tiempo necesario es corto (± 5 minutos) y no necesita ningún tipo de instalación especial. Los tests basados en marcadores de fibrogénesis, ya sea solos o de forma combinada, tienen un coste variable y, en general, no se utilizan en la práctica sistemática. Por último, los métodos que utilizan pruebas comunes de laboratorio son, como es lógico suponer, mucho más económicos y únicamente precisan algún tipo de hoja de cálculo electrónica que facilite la obtención del resultado. En este sentido, y teniendo en cuenta que la mayoría de laboratorios hospitalarios utiliza sistemas informáticos para entregar los resultados, parece razonable solicitar la inclusión de uno o varios de dichos índices, ya que ello sólo precisa el diseño del cálculo correspondiente. En nuestra propia experiencia, disponer de varios de dichos índices en la visita del paciente permite, en la mayoría de los casos, realizar una correcta evaluación del ritmo de progresión de la enfermedad, así como establecer el diagnóstico de sospecha de cirrosis.

En conclusión, en nuestro medio, parece razonable la implementación de la elastografía en la práctica clínica hospitalaria de la hepatología, aunque su eficacia puede mejorar si se dispone, además, de otros tests serológicos de evaluación de la fibrosis. En los casos en que, por el momento, no se pueda disponer de dicha técnica, parece recomendable el uso de índices serológicos sencillos confeccionados con las pruebas sistemáticas para la correcta evaluación y seguimiento de los enfermos con hepatopatía crónica.

Bibliografía

1. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis management and treatment of hepatitis C. AASLD Practice Guidelines. Hepatology. 2004;39:1147-71.
2. American Gastroenterological Association Medical Position Statement on the Management of Hepatitis C. Gastroenterology. 2006;130:225-30.

3. Consenso para el tratamiento de la hepatitis B y C. Gastroenterol Hepatol. 2006;29: Extraordinario 2.
4. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001; 358:958-65.
5. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales FL Jr, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002;347:975-82.
6. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. 2004; 140:346-55.
7. Cadranet JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFLF). *Hepatology*. 2000;324:77-81.
8. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:1449-57.
9. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol*. 2003;39:239-44.
10. 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.
11. 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;41:48-54.
12. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, et al. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut*. 2007;56:968-73.
13. Romero-Gómez M, Gómez-González E, Madrazo A, Vera-Valencia M, Rodrigo L, Pérez-Álvarez R, et al. Optical analysis of computerized tomography images of the liver predicts fibrosis stage and distribution in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2008;47:810-6.
14. Lim AK, Taylor-Robinson SD, Patel N, Eckersley RJ, Goldin RD, Hamilton G, et al. Hepatic vein transit times using a microbubble agent can predict disease severity non-invasively in patients with hepatitis C. *Gut*. 2005;54:128-33.
15. Lim AK, Patel N, Hamilton G, Hajnal JV, Goldin RD, Taylor-Robinson SD. The relationship of in vivo 31P MR spectroscopy to histology in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;37:788-94.
16. Huwart L, Peeters F, Sinkus R, Annet L, Salameh N, Ter Beek LC, et al. Liver fibrosis: non-invasive assessment with MR elastography. *NMR Biomed*. 2006;19:173-9.
17. Guéchat J, Laudat A, Loria A, Serfaty L, Poupon R, Giboudeau J. Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. *Clin Chem*. 1996;42:558-63.
18. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al; European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2004;127:1704-13.
19. Patel K, Gordon SC, Jacobson I, Hézode C, Oh E, Smith KM, et al. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol*. 2004;41:935-42.
20. Forns X, Ampurdanès S, Llovet JM, Aponte J, Quintó 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.
21. Wai CT, Greenon JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-26.
22. Lok AS, Ghany MG, Goodman ZD, Wright EC, Everson GT, Sterling RK, et al. Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: results of the HALT-C cohort. *Hepatology*. 2005;42:282-92.
23. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. for the APRICOT Clinical Investigators. Development Of A Simple Non-Invasive Index To Predict Significant Fibrosis In Patients With HIV-HCV Coinfection. *Hepatology*. 2006;43: 1317-25.
24. Vallet-Pichard A, Mallet V, Pol S. FIB-4: a simple, inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV-infected patients. *Hepatology*. 2007;46:32-6.
25. Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2007;45:297-306.
26. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T; MULTIVIRC Group. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*. 2001;357:1069-75.
27. Calès P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konaté A, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology*. 2005;42:1373-81.
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. Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005;128:343-50.
30. Adler M, Gulbis B, Moreno C, Evrard S, Verset G, Golstein P, et al. The predictive value of FIB-4 versus FibroTest, APRI, FibroIndex and Forns index to noninvasively estimate fibrosis in hepatitis C and nonhepatitis C liver diseases. *Hepatology*. 2008;47:762-3.
31. Martínez SM, Domínguez M, Fernández-Varo G, González P, Bataller R, Sampson E, et al. Rendimiento diagnóstico de métodos no invasivos en la evaluación rutinaria de la severidad de la fibrosis en pacientes con hepatitis crónica por virus C. *Gastroenterol Hepatol*. 2008;31:100-1.