



Universitat Autònoma de Barcelona

DEPARTAMENTO DE MEDICINA, UNITAT DOCENT VALL D'HEBRON

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSITAT AUTÓNOMA DE BARCELONA

Programa de Doctorado en Medicina Interna

Tesis Doctoral realizada por

Guillermina Bejarano Redondo

**EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA EN LA HEPATITIS
CRÓNICA POR VIRUS C MEDIANTE LA APLICACIÓN DE UN
ÍNDICE INDIRECTO NO INVASIVO.**

**EVALUACIÓN PROSPECTIVA DE LA UTILIDAD DE LOS ÍNDICES
INDIRECTOS NO INVASIVOS PARA LA PREDICCIÓN DE LA
EVOLUCIÓN A CIRROSIS HEPÁTICA.**

Bajo la dirección de los doctores

Dr. Xavier Calvet Calvo

Dra. Mercedes Vergara Gómez

Barcelona, Noviembre de 2015



Universitat Autònoma de Barcelona

La Dra. Mercedes Vergara Gómez y el Dr. Xavier Calvet Calvo, como directores de la tesis

Certifican:

Que Guillermina Bejarano Redondo ha realizado el trabajo de investigación correspondiente a la tesis doctoral titulada **“Evaluación de la fibrosis hepática en la hepatitis crónica por virus C mediante la aplicación de un índice indirecto no invasivo. Evaluación prospectiva de la utilidad de los índices indirectos no invasivos para la predicción de la evolución a cirrosis hepática”** la cual se ha desarrollado en el Programa de Doctorado en Medicina Interna de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, firman el certificado en Barcelona a 26 de Noviembre de 2015.

Firmado:

Doctoranda: Guillermina Bejarano Redondo

Dra. Mercedes Vergara Gómez

Dr. Xavier Calvet Calvo

A mi hija Clara, mi lucero, la mejor decisión de mi vida

A mi madre, que siempre estimuló en mí la fuerza para ser una mujer independiente

A Luis, José Manuel y Luna, mis hermanos, que tras muchos años, he vuelto a descubrir

A Merche, Montse, Sonia y Susi, por su apoyo en los momentos difíciles

A mi perrita Kokone, por su calor en los momentos más fríos de mi vida

“El hombre que se levanta es aún más grande que el que no ha caído”

Concepción Arenal

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no hubiera sido posible sin la ayuda y el apoyo constante de mi directora de tesis, la Dra. Mercedes Vergara, que siempre ha confiado en mí y me ha ayudado en los momentos difíciles de la vida. Sin su apoyo y tesón esta tesis nunca hubiera visto la luz. Ni sin el Dr. Xavier Calvet, por su gran visión científica y saber hacer.

A la Dra. Montse Gil, que desde el primer día ha sido “mi tieta”, que ha estimulado este trabajo y mi vida con sus “diez puntos”. Por su sabiduría de la medicina y de la vida.

Al Dr. Blai Dalmau, que su paz de ánimo ha sido para mí un bálsamo en los momentos más tensos.

A los compañeros y amigos de la unidad de Hepatología, los doctores Jordi Sánchez, Mireia Miquel, Merixell Casas y Eva Martínez, que me ayudaron a reclutar los pacientes. Y a Susi, Laura, María y Geli, por su ayuda, apoyo y por los cafés “terapéuticos”.

A los compañeros del servicio de Digestivo: el Dr. Félix Junquera, el Dr. Enric Brullet y el Dr. Rafel Campo, jefe de servicio. Porque siempre me hicieron sentir una más del equipo.

A los compañeros del servicio de Anatomía Patológica, en especial a la Dra. Bella, a los compañeros del servicio de Radiología, en especial al Dr. Jordi Puig, y a Oliver Valero, del Servicio de Estadística aplicada de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Porque gracias a todos vosotros ha sido posible realizar este trabajo, pese a los altibajos y las piedras del camino. Espero que pueda servir para mejorar nuestra práctica clínica diaria en beneficio de nuestros pacientes.

Índice

ÍNDICE

Acrónimos	15
I. INTRODUCCIÓN	21
1.1. PREVALENCIA	24
1.2. COSTE ECONÓMICO DE LA INFECCIÓN	27
1.3. CARÁCTERÍSTICAS DEL VHC	29
1.3.1. Genotipos	29
1.3.2. Transmisión	31
1.4. HISTORIA NATURAL	33
1.4.1. Clínica	33
1.4.2. Diagnóstico serológico	37
1.5. FIBROSIS HEPÁTICA	39
1.5.1. Historia natural de la fibrosis hepática	39
1.5.2. Mecanismos patogénicos de la fibrosis hepática	42
1.5.3. Factores de progresión de la fibrosis hepática	44
1.6. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE FIBROSIS HEPÁTICA	48
1.6.1. Biopsia hepática	48
1.6.2. Índices predictivos de fibrosis hepática	58
1.6.3. Técnicas de imagen	80
1.7. EVOLUCIÓN EN EL TIEMPO	89
1.7.1. Fibrosis progression ratio o tasa de progresión de la fibrosis	92
1.7.2. Marcadores séricos como herramientas de seguimiento de la fibrosis hepática	94
1.8. TRATAMIENTO DE VHC	98
II. JUSTIFICACIÓN	101
III. HIPÓTESIS	107
IV. OBJETIVOS	111
V. ESTUDIO I	115
5.1. MATERIAL Y MÉTODOS	119
5.1.1. Selección de pacientes	119

5.1.2. Diseño del estudio	120
5.1.3. Metodología clínica	120
5.1.4. Metodología de laboratorio	121
5.1.5. Metodología de la ecografía hepática	122
5.1.6. Metodología e los índices predictivos de fibrosis hepática	122
5.1.7. Metodología de la biopsia hepática	123
5.1.8. Metodología estadística	124
5.2. RESULTADOS	125
5.2.1. Descripción general de la muestra. Características epidemiológicas y clínicas	125
5.2.2. Desarrollo del índice predictor de fibrosis significativa	125
5.2.2.1. Análisis univariante. Características clínicas, de laboratorio, ecográficas y anatomopatológicos.	125
5.2.2.2. Curva ROC	126
5.3. DISCUSIÓN	128
VI. ESTUDIO II	133
6.1. MATERIAL Y MÉTODOS	135
6.1.1. Selección de pacientes	135
6.1.2. Diseño del estudio	136
6.1.3. Metodología clínica basal	139
6.1.4. Metodología de laboratorio	139
6.1.5. Metodología de la ecografía hepática	141
6.1.6. Metodología de los índices predictivos de fibrosis hepática	141
6.1.7. Metodología de la biopsia hepática	141
6.1.8. Metodología estadística	192
6.2. RESULTADOS	145
A) ANÁLISIS UNIVARIADO	145
6.2.1. Descripción general de la muestra. Características epidemiológicas y clínicas	145
6.2.1.1. Descripción general de la muestra. Características de los pacientes éxitus	164
6.2.2. Descripción general de la muestra. Características analíticas	166
6.2.3. Descripción general de la muestra. Características ecográficas	167
6.2.4. Descripción general de la muestra. Características anatomopatológicas	168

6.2.4.1. Características de la biopsia	168
6.2.4.2. Características de la fibrosis hepática.....	169
6.2.5. Descripción general de la muestra. Características de los índices no invasivos	171
B) EVOLUCIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA.....	173
6.3.1. Variables demográficas y epidemiológicas	176
6.3.2. Variables dependientes del virus	178
6.3.3. Variables hematológicas y bioquímicas	178
6.3.4. Variables dependientes del tratamiento	180
6.3.5. Variables dependientes de los datos ecográficos	180
6.3.6. Variables histológicas	182
6.3.7. Índices predictivos	182
6.3.8. Variables seleccionadas	183
C) ANÁLISIS MULTIVARIADO PARA LA PREDICCIÓN DE EVOLUCIÓN DE LA CIRROSIS HEPÁTICA.....	185
6.4.1. Factores predictivos de fibrosis. Estudio multivariado para cirrosis	186
6.4.2. Evaluación de la capacidad de predicción de la evolución de cirrosis de los índices Forns, APRI y NIHCED	189
D) ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.....	191
6.5.1. Curvas de supervivencia Kaplan-Meyer en la evolución a cirrosis	191
6.5.1.1. Evolución en el tiempo a cirrosis	191
6.5.1.2. Supervivencia en los pacientes que evolucionan a cirrosis.....	192
6.5.1.3. Evolución en el tiempo a cirrosis en función de los índices predictivos basales	192
6.5.2. Curvas de supervivencia Kaplan-Meyer para la mortalidad	196
6.5.2.1. Supervivencia global	196
6.5.2.2. Supervivencia en las complicaciones asociadas al VHC	197
E) ÁRBOLES DE DECISIÓN PARA EL DIAGNOSTICO DE CIRROSIS.....	198
6.3. DISCUSIÓN	200
VII. CONCLUSIONES	207
VIII. BIBLIOGRAFÍA	211

IX. ANEXOS	253
ANEXO I	255
ANEXO II	259
ANEXO III	263
ANEXO IV	267
ANEXO V	271
ANEXO VI	281
ANEXO VII	295
ANEXO VIII	301
ANEXO IX: ARTICULOS	305

Acrónimos

Ac: Anticuerpo

ADOs: antidiabéticos orales

ADVP: Adictos a drogas por vía parenteral

Ag: Antígeno

ALT (GPT): Alanina transaminasa

AMAS: Anticuerpos antimitocondriales

ANAs: Anticuerpos antinucleares

AST (GOT): Aspartato aminotransferasa

AUC: área bajo la curva (ROC)

BHP: biopsia hepática percutánea

BHTY: biopsia hepática transyugular

CH: Cirrosis hepática

CHC: Carcinoma hepatocelular

CTGF: factor de crecimiento de tejido conectivo

DDA: direct antiviral agents

DM: diabetes mellitus

E: Especificidad

EEUU: Estados Unidos

ETS: enfermedades de transmisión sexual

FA: Fosfatasa alcalina

FRP: fibrosis progresión rate (ratio de progresión de fibrosis)

GGT: Gamma-glutamyl transpeptidasa

HDA: hemorragia digestiva alta

HTA: hipertensión arterial

IC: Intervalo de confianza

IFN: interferon

IFNp: Interferon pegilado

ILB28: Interleuquina B 28

IMC: índice de masa corporal

IST: índice de saturación de transferrina

LH ±: likelihood ratio positivo/negativo

MEC: matriz extracelular

MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad

MMP: metaloproteinasas

NIT: Non-invasive tests

OMS: Organización Mundial de la Salud (WHO)

OR: odds ratio

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

PCR: Proteína C reactiva

PDGF: factor de crecimiento plaquetar (platelet-derived growth factor)

PLB: percutaneous liver biopsy

RI: resistencia a la insulina

Riv: Rivabirina

RVS: Respuesta viral sostenida

S: Sensibilidad

Sabadell's NIHCED: non-invasive hepatitis C related cirrhosis early detection

SD: desviación estándar

TGF-β: platelet derived grown factor

TNF: Factor de necrosis tumoral

TP: tiempo de protrombina

TTC: tiempo de evolución a cirrosis (time to cirrhosis)

VHB: Virus de la hepatitis B

VHC: Virus de la hepatitis C

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

VVP: Valor predictivo positivo

VVPN: Valor predictivo negativo

I. INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

El virus de la hepatitis C (VHC), descubierto en 1989, es la principal causa de hepatitis crónica en el mundo, con una prevalencia estimada de 170 millones ^{1,2}. Las primeras técnicas de detección de anticuerpos anti-VHC permitieron identificarlo como el principal agente causal de las hepatitis postransfusionales ^{3,4}. La infección por VHC se caracteriza por una gran tendencia a la cronicidad, que puede alcanzar al 70-80%, llegando a desarrollar hasta en el 20% de los casos cirrosis hepática. Aproximadamente, cada año entre 1-4% de los pacientes con cirrosis hepática por el VHC desarrollan un carcinoma hepatocelular (CHC); cada año se diagnostican más de 500.000 nuevos casos de CHC, de los cuales el 22% (>100.000 casos) son atribuibles a la infección por VHC ⁵.

Por otro lado, la infección por el VHC se ha asociado a una gran variedad de alteraciones extrahepáticas. La prevalencia de estas manifestaciones varía según las series, aunque revisiones recientes apuntan que hasta un 38% de los pacientes con infección por VHC presentan síntomas relacionados con al menos una manifestación extrahepática ⁶.

La infección crónica por el VHC determina la aparición en el hígado de una reacción inflamatoria con necrosis hepatocelular y fibrosis, siendo la intensidad, la localización y la capacidad para progresar muy variable, y por ello, el espectro histopatológico de la enfermedad es muy amplio ⁷. La historia natural de la infección por VHC es variable y los factores que determinan su evolución aún son parcialmente desconocidos. Durante años ha habido controversia en torno a la evolución variable de la infección por el VHC, y que finalmente han llevado a la conclusión de que las discrepancias entre estudios son debidos a la gran heterogeneidad de la presentación del propio virus, así como de otros co-factores implicados en la progresión de la enfermedad ⁸.

La biopsia hepática es una importante herramienta de diagnóstico a la hora de tomar decisiones terapéuticas en casos de enfermedad hepática crónica. Hasta hace poco era considerada el "gold standard" ⁹, pero sus limitaciones están bien establecidas, por lo que en los últimos años múltiples estudios han evaluado el estado de fibrosis hepática a través de diferentes métodos no invasivos serológicos, directos e indirectos, o

bien técnicas de imagen como el FibroScan®, y ya en las últimas guías ya se habla del FibroScan® como herramienta para evaluar la fibrosis hepática¹⁰.

Un índice predictor de fibrosis o una biopsia nos muestra un momento puntual en la evolución de la enfermedad hepática. Actualmente, para evaluar la capacidad predictiva de los métodos no invasivos o de la histología, lo que nos ayudaría a tener una valoración de la progresión histológica en el tiempo, y así conocer el ratio de progresión histológica de la hepatitis crónica por VHC, es necesario la realización periódica de una biopsia hepática o el cálculo periódico de los índices no invasivos. No obstante, dichos estudios son escasos en la bibliografía, dada la necesidad de largos periodos de estudio para así poder detectar cambios en la fibrosis hepática y por la dificultad de realizar biopsias hepáticas de forma periódica^{11, 12, 13}.

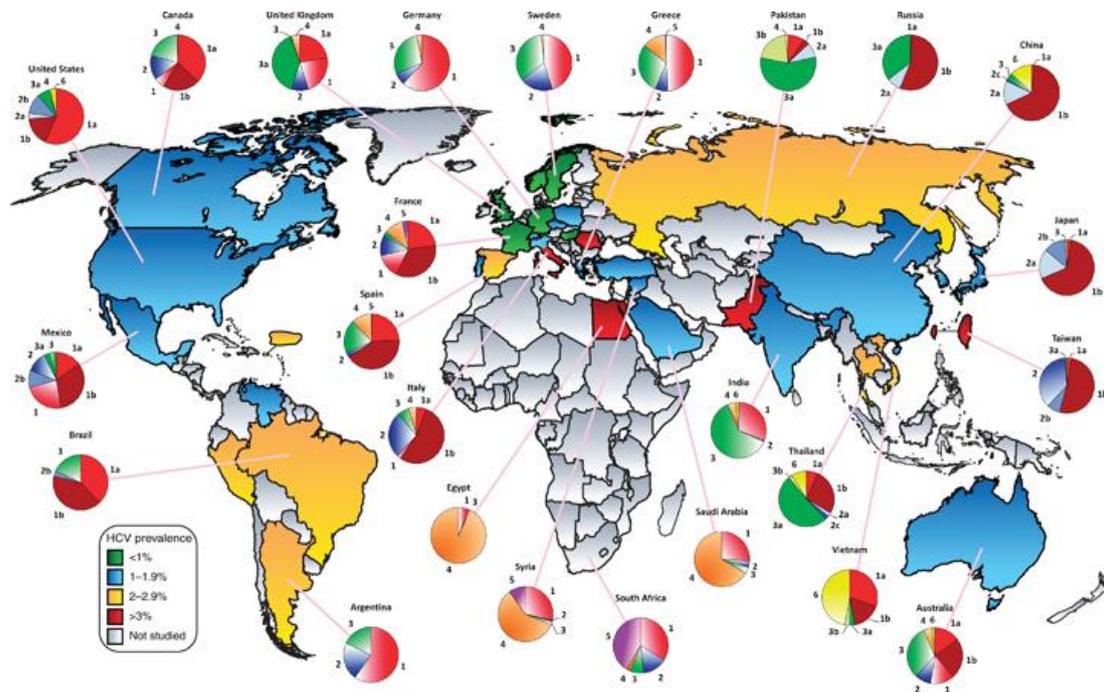
1.1.- PREVALENCIA

La infección por VHC es una de las infecciones víricas más prevalente y es la principal causa de enfermedad hepática en los países desarrollados. Se estima que entre el 2,5-3% de la población mundial (aproximadamente 170 millones de personas) sufre una infección crónica por VHC^{14, 15, 16}, siendo la postransfusional la más frecuente¹⁷.

Existe una variabilidad geográfica y temporal, probablemente en relación con el método de recogida de los datos. Por ejemplo, en algunos países, como Australia, se estudia especialmente la prevalencia en grupos de riesgo (ADVP), en cambio en otros países (Estados Unidos, Francia, Alemania), la prevalencia se basa en la población general, excluyendo de los datos a individuos institucionalizados o ADVP, lo que lleva a una infraestimación de los datos¹⁸. La prevalencia en los países industrializados es del 1-2% de la población general y sólo en Europa hay unos 4 millones de portadores.

Por otro lado, si bien la prevalencia de la infección por VHC no es del todo bien conocida, es mucho más difícil evaluar la incidencia real, debido a que la fase aguda de la infección pasa desapercibida al ser en la mayoría de los casos asintomática. Algunos países usan modelos matemáticos para inferir la incidencia de la infección por VHC usando la prevalencia según patrones de edad. Otros países determinan la incidencia

determinando el ratio de seroconversión en cohortes de personas VHC negativas controladas a lo largo del tiempo. Las infecciones nosocomiales y los ADVP son los principales factores de riesgo para la infección por VHC, además de que en muchos países no existe un screening universal de los donantes de sangre ^{18 19}. (Fig. 1).



Region	Anti-HCV (%)	No. HCV-infected
Africa	3.2	28 100 000
Americas	1.5	14 000 000
Asia	2.1	83 000 000
Australia and Oceania	1.2	400 000
Europe	2.3	17 500 000
Middle East	4.7	16 000 000
Total	2.35	159 000 000

Fig. 1: The global health burden of hepatitis C virus infection (Negro F, Alberti A. *The global health burden of hepatitis C virus infection. Liver Int.* 2011;31 Suppl 2:1-3)

La prevalencia más baja (0,01-0,1%) ha sido registrada en Reino Unido y Escandinavia, y la más alta (15-20%) en Egipto. Además de las diferencias de prevalencia geográficas, también existen diferencias entre los patrones de edad; así, por ejemplo, países como Estados Unidos, Australia, España, Italia y Japón presenta prevalencias globales de infección por VHC muy similares (1,0-1,9%), pero con diferencias en el patrón de edad ¹⁹.

En la Comunidad Europea, las estimaciones actuales ¹⁷ hablan de entre 7.3 y 8.8 millones de personas (1.1-1.3%) con infección crónica por VHC, casi el doble de lo estimado en 1997, lo que indica que la infección por VHC es un importante problema de salud en Europa, previendo que aumente en la próxima década. En todo el continente Europeo, se estima que 17.5 millones de personas están infectadas por el VHC, muchos de ellos, casos no diagnosticados.

En España, se calcula una prevalencia que oscila entre el 1.6 y el 2.6% de la población ^{20, 21} y aumenta de forma progresiva con la edad, alcanzando el 4.1% en los mayores de 65 años ^{22, 23}. Evoluciona a la cronicidad de forma asintomática y por tanto en muchos casos no es detectada. Hasta un 20-30% de los pacientes progresaran a cirrosis hepática en un periodo de tiempo que oscila entre 10 y 20 años ²⁴.

En España, es obligatoria la declaración de casos de hepatitis aguda por VHC, no así los datos de prevalencia de infección crónica. La mayoría de los estudios se hacen en población general y la mayoría de estos estudios no incluyen datos sobre el porcentaje de pacientes con hepatitis crónica por VHC ni los genotipos ²⁰. La identificación de factores de riesgo en España surge a raíz de cinco estudios ^{20, 22, 25, 26, 27, 28}. Las hospitalizaciones fueron el factor de riesgo más prevalente (72%), seguido por ADVP (10%).

La prevalencia de VHC en España es de las más altas de Europa ²⁹, datos que nos llegan a través de dos grandes estudios epidemiológicos ^{20,22}. Sola et al ²⁰, en un estudio retrospectivo, concluye que los factores de riesgo más frecuentes para la infección de VHC fueron el ingreso en un hospital (74,5%), procedimientos odontológicos (85,1%), el uso de jeringas (61,7%) y cirugías anteriores (59,5%)

Entre los ADVP, se calcula que la prevalencia de VHC es superior al 80% ^{29 30}. El estudio ITINERE muestra que la incidencia de VHC entre los jóvenes ADVP llega a 34,8/100 individuos/año (IC 95%), entre el 70-80% de los casos no se diagnostican,

evolucionando de forma crónica entre el 60-85% de los casos, con una tasa de transmisión hasta 5 veces más que el VIH, dado que se trata de un virus 10 veces más contagioso que el VIH.

El genotipo más frecuente es el genotipo 1, que se confirma en el 65% de los casos, mientras que el genotipo 3 representa entre 18.5-20.9%, asociado al uso de drogas por vía parenteral, seguido del genotipo 4 (11,6%), más asociado a la inmigración, y por último, el genotipo 2 (3.1%)³².

Por tanto, podemos decir que la hepatitis C es un problema sanitario de gran magnitud al tener en cuenta que una gran parte de la población con infección crónica evolucionará a formas avanzadas e irreversibles de enfermedad, lo que hace conveniente el diseño de estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento de la hepatitis C.

1.2.- COSTE ECONÓMICO DE LA INFECCIÓN

Existen pocos estudios que se centren en los costes de la infección crónica y aguda por VHC. En Estados Unidos se estima que durante el periodo 2010-2019, el coste total estimado será de aprox. 184 billones de dólares. El Centro Europeo para la monitorización de drogas (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA) estima que los costes relativos a la infección por VHC en 10 países europeos será de 50 millones de euros, sin incluir el tratamiento ni el control clínico periódico. El gasto en España para el periodo 2010-2030, se ha estimado en 3 billones de euros^{17, 33}.

García-Fulgueiras et al³⁴, recogieron los datos de mortalidad de 2000 (Instituto Nacional de Estadística) y calcularon los años de vida perdidos. El estudio concluye que el VHC podría haber causado alrededor del 70% de las muertes por CHC y el 50% de la mortalidad por cirrosis en España, por lo que se estimaba unas 4342 las muertes relacionadas con el VHC en España, lo que duplicaba la mortalidad por el SIDA.

Muchos pacientes son asintomáticos hasta que aparecen las complicaciones de la cirrosis descompensada y del CHC, aumentando de esta manera el gasto sanitario, en forma de aumento en el número de visitas, fármacos e incluso trasplante (30% de las

causas de trasplante hepático). En el estudio de Buti M et al, se planteó un modelo matemático (modelo de Markov) para estimar la morbilidad, mortalidad y costes de la hepatitis crónica C en España en los próximos 30 años y de esta manera evaluar el impacto de la terapia ³³ (Fig. 2). El tratamiento del 50% de la población diana (264.337 pacientes) podría reducir la morbilidad a 14.881 casos (vs 17.692) y de la mortalidad a 73.500 muertes (vs 91.000) en el año 2030.

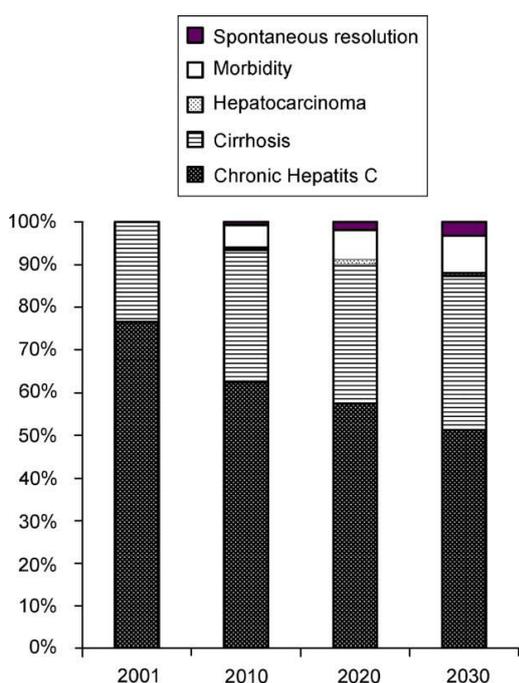


Fig. 2: Evolución de la hepatitis crónica C en 30 años. (Buti M, San Miguel R, Brosa M, et al. Estimating the impact of hepatitis C virus therapy on future liver-related morbidity, mortality and costs related to chronic hepatitis C. J Hepatol. 2005;42(5):639-64)

De este estudio se infiere el incremento futuro de la morbi-mortalidad asociada a la hepatitis C, incluso sin tener en cuenta los nuevos casos de infección, que llevarán asociados elevados gastos por parte de los sistemas sanitarios derivados de la cirrosis descompensada y del CHC. Por tanto, la implementación de una mejora en el diagnóstico precoz y el acceso al tratamiento correcto podría tener un impacto importante sobre la morbi-mortalidad causada por el virus de la hepatitis C en las próximas décadas, reduciendo el coste del tratamiento de las complicaciones y del número de trasplantes hepáticos.

1.3.- CARACTERÍSTICAS DEL VHC

El VHC pertenece a la familia de los *Flaviviridae*, género *Hepacivirus*³⁵, con un genoma RNA de cadena única con 9500 nucleótidos. Dado que el VHC no se replica a través de un ADN intermedio, no se integra en el genoma del huésped. Los datos disponibles sugieren que el virus se replica en el citoplasma en un complejo asociado a la membrana, donde se forma un ARN intermediario a partir del cual se sintetiza el ARN de cadena positiva, que junto con el cápside y la envoltura darán lugar al virón.

Su genoma está constituido por una molécula de ARN de cadena simple formado por 9.500 nucleótidos que codifica una proteína de unos 3.010 aminoácidos, a partir del cual se liberan las distintas proteínas virales, por la acción de las proteasas del hepatocito y de dos proteasas virales³⁶ (**Fig. 3**).

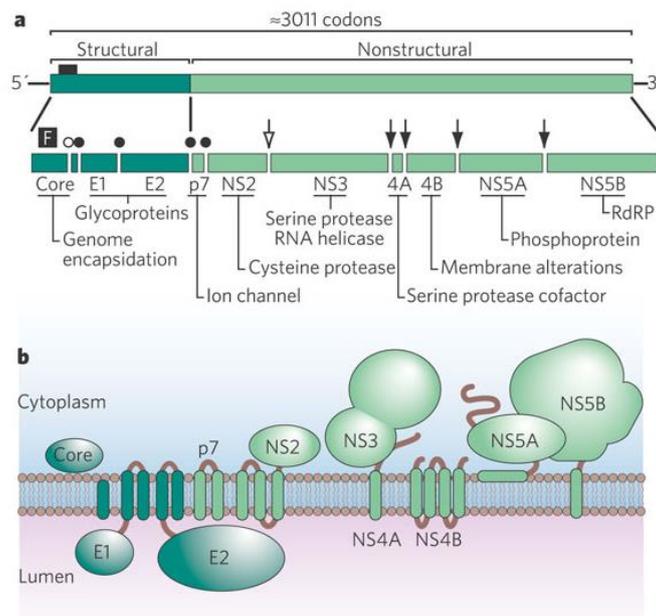


Fig. 3: Organización genómica del VHC. (Lindenbach, B, Rice C. *Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. Nature 2005; 436: 933-938*)

1.3.1.-Genotipos

El VHC se divide en seis genotipos principales (genotipos 1-6) que difieren entre sí un 30-40% de material genético, y que a su vez se subdividen en tres subtipos principales (a, b, c) cuyas secuencias difieren entre sí un 15-20%. La diversidad de genotipos y

subtipos del VHC, debido a su alta tasa de mutación, hace que la inmunidad humoral no sea lo suficiente eficaz para eliminar el virus ^{37, 38, 39}.

El VHC muestra una gran versatilidad genética basada en la variabilidad en la secuencia nucleótida del genoma ⁴⁰. Estas diferencias genéticas se expresan en la forma de evolución de la enfermedad y en la respuesta al tratamiento. Las regiones E1 y E2 del genoma del VHC han demostrado una alta tasa de mutación nucleótida, y sugiere que estas regiones varían bajo la presión selectiva del sistema inmune del huésped.

En 1994 en la Segunda Conferencia Internacional de VHC y virus relacionados, se llegó al consenso sobre la nomenclatura de los genotipos del VHC ³⁸. De acuerdo a esta clasificación, el VHC está clasificado en base a similares secuencias nucleótidas, que son los genotipos, algunos de ellos con diferentes subtipos (**Fig. 4**), con una variación máxima entre ellos del 33%, en la región NS5 ⁴¹.

Subtype	% Similarity to:										
	1a	1b	1c	2a	2b	2c	3a	3b	4a	5a	6a
1a	100	81	85	65	66	63	67	66	68	69	64
1b		100	77	64	67	64	67	71	64	70	65
1c			100	68	70	67	65	70	64	61	61
2a				100	82	77	67	67	66	66	68
2b					100	81	64	69	65	67	66
2c						100	64	65	65	66	65
3a							100	79	65	67	64
3b								100	66	68	61
4a									100	66	66
5a										100	68
6a											100

Fig. 4: Secuencia comparativa entre los subtipos de VHC (Zein NN. *Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. Clin Microbiol Rev. 2000;13(2):223-235*)

Los genotipos 1, 2 y 3, y sus subtipos, están ampliamente distribuidos a nivel mundial, pero con diferencias geográficas en cuanto a la prevalencia ⁴¹. Los subtipos 1a y 1b son los más predominantes en Europa ⁴² y son los responsables del 70% de las infecciones crónicas en España ⁴³. El subtipo 1b se detecta predominantemente en las hepatitis crónicas postransfusionales o esporádicas, mientras que los pacientes con antecedentes de drogadicción están infectados de forma predominante por los genotipos 2 y 3 ^{44 45}. Por otro lado, el genotipo 4 se distribuye preferentemente por el Centro y Norte de África, India y Oriente Medio, mientras que el genotipo 5 está confinado a Sudáfrica y a una zona local de Francia central (Vic-le-Comte) y 6 en Hong Kong (Sudeste de Asia) ^{37,41}. Los aislados con anterioridad conocidos como genotipos 7 a 11 son ahora

considerados subtipos dentro del genotipo 3 (genotipo 10) y genotipo 6 (genotipo 7, 8, 9 y 11) ^{46, 47, 48}.

La respuesta humoral a través de anticuerpos se genera directamente contra varias proteínas virales, normalmente contra las de la envoltura viral, y los anticuerpos generados son serotipo-específicos. Además, se ha demostrado que el VHC presenta una gran variabilidad genómica, consecuencia de la incapacidad de la polimerasa de corregir errores durante la replicación, lo cual se traduce en la generación de los serotipos y de las quasiespecies, que no son sino mutaciones a lo largo de una infección crónica, con diferencias de uno o más nucleótidos, y de esta manera, evitar la presión inmune y aumentar la virulencia y patogenicidad ⁴⁹, lo que es relevante a la hora de crear una vacuna contra el VHC, dado que hay estudios que muestran que la protección inmune contra una cepa concreta no protege contra la infección por otra cepa ^{50, 51, 52, 53, 54}. Hay publicaciones que asocian el genotipo con la probabilidad de evolución de hepatitis aguda a crónica. Se calcula que el 92% de las infecciones por genotipo 1b evolucionan a cronicidad, comparado con el 33-50% del resto de genotipos, además de estar asociado a un curso más agresivo de la enfermedad hepática ⁵⁵. Como mecanismo de aclaramiento viral, se han postulado además otros factores asociados al huésped como la inmunidad celular/humoral.

1.3.2.-Transmisión

El VHC es de transmisión fundamentalmente parenteral y los principales factores epidemiológicos de riesgo son los pacientes con antecedentes de ADVP, transfusión de sangre, derivados plasmáticos y trasplante de órganos infectados ⁵⁶. Sin embargo a partir de 1990, estas tres últimas formas de transmisión virtualmente han desaparecido debido al cribado rutinario para detectar la presencia del VHC ³⁷. También se ha descrito la infección en pacientes sometidos a hemodiálisis ⁵⁷ y en el personal sanitario que sufre una punción accidental con material contaminado por el VHC ⁵⁸. Otras vías de contagio, como la transmisión sexual, intrafamiliar y vertical, juegan un escaso papel epidemiológico en países desarrollados (aprox. 10-15%). Recientemente la infección nosocomial se ha mostrado como un importante factor de transmisión en los pacientes ingresados ²⁵.

Dado que la infección aguda por hepatitis C es en la mayoría de los casos asintomática, es necesario un alto índice de sospecha clínica para detectar nuevos casos de hepatitis aguda C, la mayoría de las veces en los controles post-exposición en grupos de riesgo.

- **Uso de jeringuillas para inyección de drogas (ADVP).** Ha sido el modo de transmisión más frecuente en EEUU y gran parte de Europa en los últimos 40 años. Aunque la ratio de infección entre los ADVP en los 2-3 primeros años del uso de jeringuillas ha ido descendiendo de forma paulatina, actualmente la incidencia permanece entre el 15 al 30% anual ^{119, 59}. Esto es probablemente debido a que el VHC es altamente transmisible, más que otros virus sanguíneos y la alta incidencia de infección crónica ⁶⁰. Se calcula que después de 5 años de ser ADVP, entre el 50-90% de los usuarios están infectados por el VHC.
- **Transfusiones y trasplantes.** Actualmente, en los países desarrollados el riesgo de transmisión asociado a transfusión se estima entre el 0,01%-0,9%. Antes de 1986 la incidencia alcanzaba el 13%.
- **Transmisión nosocomial.** En los últimos años y en los países desarrollados es extremadamente rara la declaración de transmisión de VHC. Actualmente, representa entre el 15-25% de los casos de hepatitis aguda por VHC en todo el mundo, existiendo la mayoría de los casos en países en vías de desarrollo²⁵.
- **Exposiciones ocupacionales.** La prevalencia de la infección por VHC entre trabajadores de la salud transmitida por actos sanitarios no parece mayor que la propia del área geográfica en cuestión. El principal factor de riesgo es el pinchazo accidental, donde el 1,8% de los infectados pueden seroconvertir ⁵⁸.
- **Exposición perinatal.** La incidencia de hepatitis aguda representa aproximadamente el 5% de los casos, de curso asintomático en la mayoría de ellos ¹⁹. Ocurre de forma exclusiva cuando la madre tiene infección activa.
- **Exposición sexual.** La importancia de la transmisión sexual de la hepatitis C aún permanece en controversia. Parece ser que los factores asociados con mayor incidencia de infección incluye un gran número de parejas sexuales, historia de ETS y mal uso del preservativo. Actualmente, se considera que la transmisión entre parejas heterosexuales serodiscordante es de <1%, siendo mayor en los pacientes co-infectados por VIH. Por otro lado, en los últimos

años se ha confirmado un aumento de la incidencia de infección de VHC en pacientes homosexuales VIH positivos ⁵⁹.

1.4.- HISTORIA NATURAL

1.4.1.-Cínica

El 80% de los pacientes con VHC tienen infección crónica. Un tercio de ellos desarrollarán una cirrosis hepática en los siguientes 20 años, y hasta un 7% de los pacientes con CH presentarán un carcinoma hepatocelular ^{61,62}. Sin embargo, aproximadamente dos tercios de los portadores crónicos tendrán una infección crónica clínicamente asintomática, que en ausencia de otros factores adyuvantes (consumo de alcohol, co-infección por VHB y/o VIH) se mantendrá estable o con una lenta evolución del grado de fibrosis hepática a lo largo de toda su vida ⁷.

Por otro lado, la infección crónica por el VHC está claramente relacionada con una larga lista de manifestaciones extrahepáticas ^{63, 64, 65, 66}, como la crioglobulinemia mixta esencial ⁶⁷, la glomerulonefritis membranoproliferativa, la porfiria cutánea tarda, el síndrome de Sjögren ^{68, 69}, los linfomas no Hodgkin de células B de bajo grado ⁷⁰ o la diabetes mellitus tipo II ⁷¹.

Múltiples estudios han demostrado que las características del huésped y las diferentes variables ambientales pueden influir en el curso natural de la infección por VHC, explicando así la gran heterogeneidad de esta enfermedad. Estas diferencias están bien establecidas a la luz de los diferentes resultados y tasas de evolución a cirrosis hepática (CH) en diferentes cohortes de pacientes seguidas por un periodo similar de tiempo (20-25 años) después de la infección ^{7, 9, 10, 18, 24, 72}.

En los pacientes adultos, principalmente varones, infectados en la época pre-serológica (a la edad aproximada de 45-65 años), a través de un importante inóculo mediante transfusiones de sangre o hemoderivados, un 15-27% desarrollaron CH ⁷³, en comparación al 4% de aquéllos que la adquirieron en la comunidad, del 1% de los individuos ADVP, el 0.4-2% de las mujeres jóvenes infectadas a través de preparaciones

de anti-D Ig contaminada y el 0.3% de los infectados por vía vertical. Todos estos datos muestran que el tamaño y la fuente de infección, la edad y el sexo son variables importantes que afectan el desarrollo y el resultado de la hepatitis C crónica ⁷.

A) Hepatitis aguda

La **hepatitis C aguda** es asintomática u oligoasintomática en el 70-80% de los casos y su evolución fulminante es extremadamente rara en ausencia de cofactores y/o coinfecciones con otros virus hepatotrópicos. La infección aguda por VHC evoluciona a cronicidad en el 50-90% de los pacientes ⁷. En Europa, el VHC es responsable del 10% de los casos de hepatitis aguda sintomática ⁷².

La hepatitis aguda ocurre tras un período de incubación entre 15 a 160 días (media de 7 semanas). Sólo el 20-30% de los pacientes presentarán clínica, que en general es bastante variable: anorexia, náuseas, astenia, artromialgias, cefalea, fotofobia, faringitis e ictericia, la cual suele preceder al resto de los síntomas en 1 ó 2 semanas. Además, existe hepatomegalia dolorosa, y hasta en un 20% de los pacientes, esplenomegalia y adenopatías cervicales. La fase de recuperación o post-ictérica se puede prolongar entre 2 y 12 semanas ⁵⁹.

El diagnóstico de la hepatitis aguda a veces pasa desapercibido dado la escasez de síntomas típicos. Desde el punto de vista analítico nos encontraremos con alteraciones bioquímicas fruto de la necrosis hepática, común a las distintas formas de hepatitis. La elevación de transaminasas se inicia en la fase prodrómica, antes del aumento de la bilirrubina.

El diagnóstico se basa en una hipertransaminemia marcada y la detección de ARN de VHC por PCR. La documentación de seroconversión de los anticuerpos VHC (anti VHC) (aprox. a los 3 meses de la infección) ⁷⁴, confirman la hepatitis aguda (**Fig. 5**) ⁵⁹. En aquellos casos en que no se puede asegurar la seroconversión, existen unos criterios secundarios: elevación de AST > 10-20 veces al límite de lo normal, contacto de riesgo los 6 meses antes y descartar otra causa de daño hepático agudo.

Tras la infección aguda, la mayor parte de los pacientes (hasta el 85%), sobre todo los asintomáticos, evolucionarán hacia una hepatitis crónica, caracterizada

por la persistencia de transaminasas elevadas y RNA positivo, pudiendo haber fluctuaciones tanto de las transaminasas como de la viremia.

Un 10-20% de los pacientes normalizarán las transaminasas y negativizarán el RNA-VHC (el 9% en los primeros 6 meses, y un 3% de los pacientes en los siguientes 1-4 años) ⁷³, pudiendo mantener la serología positiva durante largos períodos de tiempo.

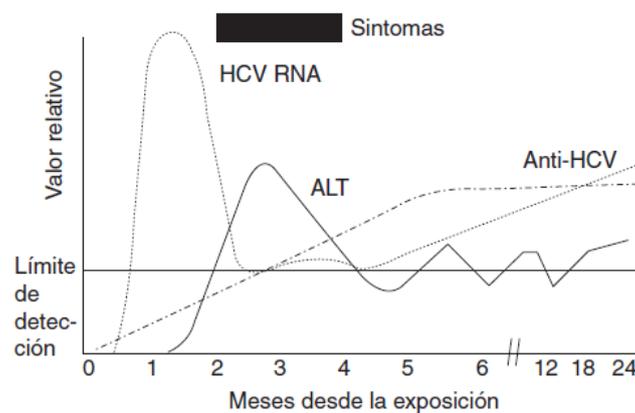


Figura 5: Evolución clínica y analítica de la infección aguda de VHC (Martínez-Rebollar M, Larrousse M, Calvo M, et al. *Current status of acute hepatitis C. Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011; 29(3):210-215.

Otro 10-20% de los pacientes presentarán cifras normales de transaminasas con viremia y serología positivas. A estos pacientes se les considera portadores crónicos ya que la mayoría tiene alteraciones histológicas evidentes aunque leves, y además mantienen el potencial de transmisión ^{7, 73}. En general su curso es más benigno que los primeros y requiere monitorización periódica de ALT, ya que mientras las cifras de ALT se mantengan en rango normales la progresión histológica es muy lenta ⁷. Varios estudios han demostrado que una respuesta inmune celular intensa es un factor importante para la eliminación viral espontánea ^{75, 76}.

En cuanto al tratamiento farmacológico, según las guías actuales, la monoterapia con interferón pegilado (PegIFN- α) durante 12 semanas, puede alcanzar la RVS en hasta el 90% de los casos. En pacientes co-infectados por VIH, se recomienda el uso de PegIFN- α y ribavirina durante 24 semanas. Por otro lado, en cuanto a los regímenes libres de interferón, aunque no hay datos disponibles, se pueden usar sin ribavirina y con las mismas dosis y duraciones

que se emplea para los pacientes con hepatitis crónica, hasta que nuevos datos indiquen dosis y/o tiempos menores.

B) Hepatitis crónica

La mayoría de los casos de **hepatitis crónica por VHC** son identificados en su **fase crónica**. El análisis de grandes series de pacientes en los cuales se conocía la fecha de infección nos ha ayudado a conocer la evolución histológica en la hepatitis C crónica. Un tercio de pacientes se les podría definir como “progresores rápidos” (tiempo de infección-CH de < 20 años), un tercio de “progresores intermedios” (tiempo de infección-CH entre 20-50 años) y otro tercio de “progresores lentos” (tiempo de CH > 50 años) ⁷⁷.

Dado que la mayoría de los pacientes presentan síntomas inespecíficos o no presentan clínica, frecuentemente el estudio se inicia tras el hallazgo casual de un aumento de las transaminasas, con posterior determinación de los anticuerpos del VHC (**Fig. 6**). En algunos casos la enfermedad se descubre al investigar a un paciente con manifestaciones propias de alguno de los procesos extrahepáticos asociados a la infección por VHC. Los mecanismos patogénicos responsables de las manifestaciones extrahepáticas de la infección por VHC son fundamentalmente: linfoproliferativos, por expansión clonal de células B secundaria a la estimulación antigénica crónica, y autoinmunes, por fenómenos de mimetismo molecular entre proteínas víricas y antígenos del huésped.

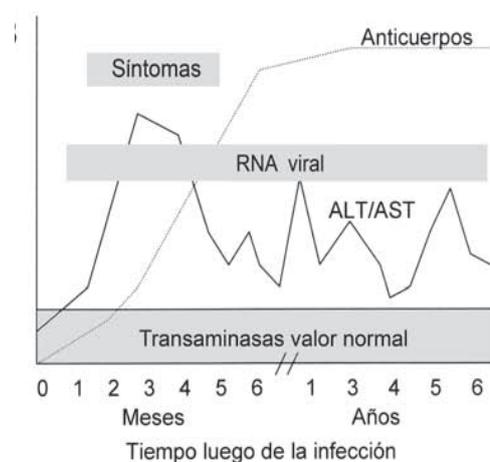


Fig. 6: Evolución clínica y analítica de la infección crónica de VHC

Multitud de estudios han demostrado que la infección por genotipo 1 está asociado a mayor severidad de la enfermedad hepática y a una tasa de evolución de la fibrosis hepática más rápida que otros genotipos; además una mayor proporción de pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC) tienen genotipo 1 ^{78,}

^{79, 80}

1.4.2.-Diagnóstico serológico ⁸¹

El diagnóstico y monitorización de la infección por VHC se basa en el uso de varios marcadores virológicos, unos indirectos como los anticuerpos anti-VHC, y otros directos como antígeno del core, RNA-VHC, genotipo y el perfil de resistencias, este último no usado de forma rutinaria.

A) Detección de Ac. anti-VHC

Los Ac. Anti-VHC aparecen entre la semana 2 y 8 después de la infección aguda y persisten de por vida en los pacientes que desarrollan infección crónica. Hay un período de ventana serológica en la que se puede detectar el RNA-VHC y el Ag. del core pero con Ac anti-VHC aún negativos.

La detección se realiza mediante los test de enzimoimmunoanálisis de tercera generación (EIA-3), los cuales incorporan parte de la proteína codificada por la región NS5, además de otros péptidos sintéticos. Los EIA-3 son baratos, sensibles y fáciles de usar y automatizar. Pero tienen sus limitaciones: el periodo ventana de aparición de los Ac. anti-VHC para los EIA-3 es de entre 6-8 semanas; existen casos de falsos negativos en pacientes inmunocomprometidos, así como de falsos positivos en pacientes con factor reumatoide positivo. En estos casos, es posible realizar test confirmatorios basados en técnicas de inmunoblot recombinante (RIBA), detectándose proteínas recombinantes específicas a las que se dirige el anti VHC.

Los Ac. IgM contra el VHC (core) no se ha podido demostrar como marcador fiable de hepatitis aguda, pues entre el 50-70% de los pacientes con hepatitis crónica también lo presentan.

B) Detección de Ag core-VHC

Su detección en sangre periférica está directamente relacionada con los niveles de RNA-VHC, por lo que se propuso como alternativa a la PCR en tiempo real del RNA⁸², al ser más sencillo y barato. No obstante, es menos sensible que la PCR variando de forma sustancial entre los diferentes genotipos.

C) Detección del RNA-VHC

El RNA-VHC puede ser detectado en sangre entre 1-3 semanas después de la infección y 1 mes antes de la aparición de los Ac. anti-VHC. Los niveles de RNA son el verdadero marcador de replicación viral, y suelen permanecer más o menos estable en el tiempo en los pacientes con infección crónica. No tiene valor pronóstico en cuanto a la severidad de la fibrosis hepática o la progresión a cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular (CHC)⁸³.

Las técnicas de PCR en tiempo real (PCR-RT) son mucho más sensibles que las técnicas de PCR clásicas. El rango máximo de cuantificación de las primeras es de 7-10 log₁₀ IU/mL. Además, puede ser automatizada y el índice de falsos positivos por contaminación es muy escaso.

D) Determinación de genotipo-VHC⁸⁴

Se basa en la ampliación de una región subgenómica mediante la PCR-RT, para posteriormente diferenciar entre los diferentes genotipos mediante secuenciación directa, reamplificación con cebadores específicos de genotipo/subtipo, hibridación inversa... entre otras posibilidades.

Diagnóstico de la infección crónica por VHC se define como la persistencia de ARN durante >6 meses. Se han documentado casos de hepatitis crónica con ARN detectable pero con ac. anti-VHC negativos en pacientes severamente inmunodeprimidos o en hemodiálisis.

1.5.- FIBROSIS HEPÁTICA

La fibrosis es la consecuencia variable y nociva de una inflamación crónica producida por un insulto hepático, en este caso la infección por el VHC, lo que produce el depósito de matriz extracelular y la muerte progresiva del tejido hepático.

La cirrosis no es más que el estado crónico, difuso, irreversible y final de fibrosis crónica, la cual condiciona la alteración de la arquitectura vascular hepática y la producción de nódulos regenerativos rodeados de puentes de fibrosis, que condiciona la funcionalidad hepática.

1.5.1.-Historia natural de la fibrosis hepática

La evaluación de la fibrosis es crucial en la valoración de la enfermedad hepática crónica producida por el virus de la hepatitis C. El espectro de enfermedad hepática debido al VHC es extremadamente variable⁸⁵ ya que hay muchas variables, a veces independientes, pero otras muchas veces interrelacionadas y sinérgicas, que afectan en la progresión de la fibrosis en la hepatitis C. Es la heterogenicidad de esas variables, así como las limitaciones metodológicas de los estudios realizados la que hace muy complicado generar un modelo que describa la historia natural de la enfermedad²⁴. Cabe destacar los siguientes factores:

1. La primoinfección es paucisintomática, por tanto es muy difícil precisar el tiempo de inicio.
2. La fase crónica de la infección también es asintomática, con una evolución silente durante décadas, sólo detectable mediante histología.

El 85% de los pacientes con infección aguda por VHC desarrollan enfermedad crónica, de los cuales el 20% evolucionan a cirrosis de manera más o menos lenta (el 75% son progresores intermedios-lentos). **Fig. 7.**⁸⁵

Como se ha comentado anteriormente, aproximadamente un tercio de los pacientes se considera como progresores rápidos, con evolución a CH en aproximadamente 20 años⁷⁶. Una vez establecida la CH el riesgo anual de desarrollar fallo hepático es de 2-4% y de tener un CHC se estima entre 1-7%⁸⁷.

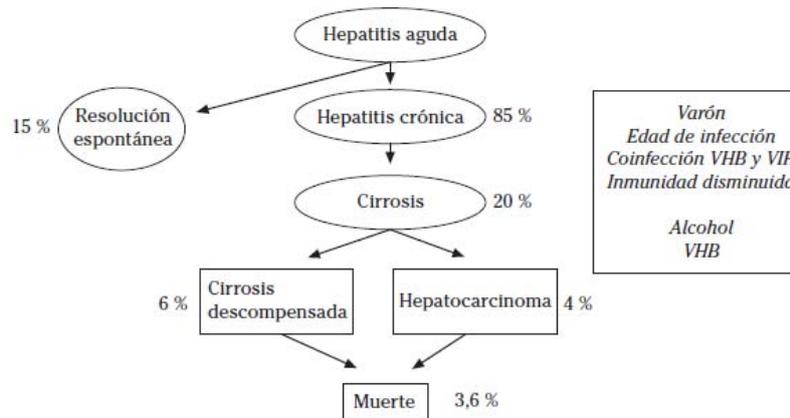


Fig. 7: Historia natural de la infección por VHC y factores que pueden modificarla negativamente. (Uriz J, Briz R. *Natural history of hepatitis C virus infection. An Sist Sanit Navar. 2004;27 Suppl 2:51-58*)

La historia natural de la CH se caracteriza por una fase asintomática denominada cirrosis compensada. La detección precoz de la infección crónica es fundamental para evitar la evolución de la misma mediante un tratamiento eficaz a cirrosis y sus complicaciones derivadas. El pronóstico de la CH se evalúa mediante la clasificación de Child Pugh que valora signos directamente relacionados con el grado de insuficiencia hepática y con la hipertensión portal^{88, 89, 90} **(Fig. 8)**.

PARÁMETROS	PUNTOS ASIGNADOS		
	1	2	3
Ascitis	<i>Ausente</i>	<i>Ligera</i>	<i>Moderada</i>
Bilirrubina mg/mL	<2	2-3	>3
Albúmina g/dL	>3.5	2.8-3.5	<2.8
Tiempo de protombina * Segundos	1-3	4-6	>6
* INR	<1.7	1.8-2.3	>2.3
Encefalopatía	<i>Ausente</i>	<i>1 ó 2</i>	<i>3 ó 4</i>

GRADO	PUNTOS	SOBREVIDA AL AÑO (%)	SOBREVIDA A LOS 2 AÑOS (%)
<i>A: enfermedad compensada</i>	5-6	100	85
<i>B: enfermedad hepática moderada</i>	7-9	80	60
<i>C: enfermedad hepática severa</i>	10-15	45	35

Fig. 8: Sistema Child-Pugh (1964), modificado en 1973 al añadir el tiempo de protombina y eliminar el índice de masa corporal. *Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. Major Probl Clin Surg. 1964;1:1-85.*

1.5.2.-Mecanismos patogénicos de la fibrosis hepática

La fibrosis hepática es el resultado de la respuesta biológica hepática a una agresión crónica, en este caso, la infección por VHC. Inicialmente es un proceso dinámico y complejo consecuencia de un equilibrio entre la fibrogénesis y la fibrinólisis (degradación de los componentes de la matriz extracelular –MEC-). El resultado de la perpetuación de estos procesos, es el desequilibrio entre fibrogénesis y fibrinólisis, a favor de la primera, con la posterior evolución de la fibrosis y acumulación de MEC y por tanto, destrucción de la arquitectura hepática. El estado final de la fibrosis es la cirrosis.

La fibrogénesis se caracteriza por la formación de matriz extracelular (MEC), proteínas (colágeno y elastina), glicoproteínas (fibronectina y laminina) y proteoglicanos organizados e interconectados ⁹¹ (Fig. 9). En presencia de daño hepático, en este caso la infección por VHC, los linfocitos T CD8 o citotóxicos reconocen células infectadas por el VHC, las cuales presentan el antígeno en la superficie celular junto con el MHC-I, programando de esta manera la muerte celular, y así el virus puede ser aclarado.

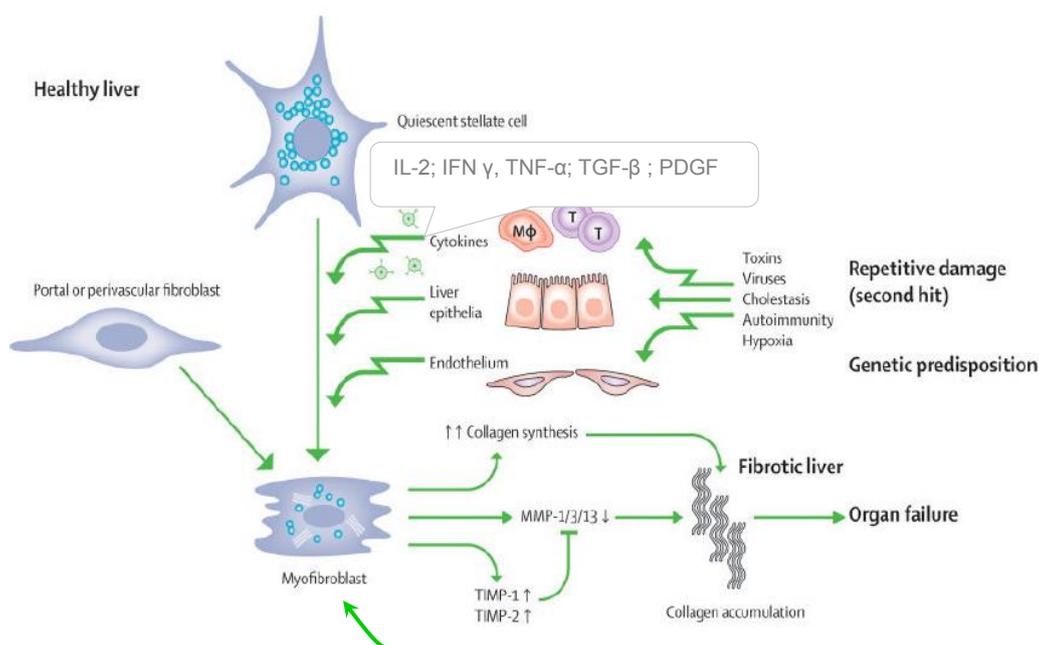


Fig. 9: Inicio y perpetuación de la fibrogénesis. (Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. Lancet. 2008;371(9615):838-851)

Sin embargo en la hepatitis crónica C este fenómeno está atenuado, por lo que se perpetúa la producción de citoquinas por parte de CD4 (Th2) y CD8. Las citoquinas tienen efectos sobre las células de Kuppfer, los macrófagos, fibroblastos perivenulares y

sobretudo, en las células estrelladas hepáticas y portales, que en estados de salud están quiescentes. Las células estrelladas o de Ito, una vez activas por las citoquinas de los CD4 y CD8, especialmente por el TGF- β , presentan una transdiferenciación fenotípica y adquieren capacidades proliferativas, fibrogénicas, contráctiles y productoras de más citoquinas, actuando de esta manera como miofibroblastos ⁹¹, los cuales producen colágeno tipo I, que se deposita en el espacio sinusoidal, produciendo un tejido cicatricial o de fibrosis. En el estado de cirrosis, el contenido de colágeno es hasta 10 veces mayor que el normal.

Inicialmente este proceso de fibrogénesis actúa como reparador local del daño hepático. Sin embargo, en fases avanzadas de la hepatitis crónica, las células estrelladas inician la síntesis de más tipos de colágenos (I, III y IV), ácido hialurónico, elastina y laminina. Este proceso activa la fibrinólisis, activando las metaloproteinasas (MMP) de la MEC. Con la perpetuación del proceso, el equilibrio se rompe a favor de la fibrogénesis, aumentando la producción de colágenos, inhibiendo MMP y activando la producción de inhibidores fisiológicos de las MMP: los TIMP-1 y TIMP-2. Además, el TIMP-1 activa la formación de más miofibroblastos e inhiben su apoptosis.

La alteración de la MEC provoca la alteración de la arquitectura hepática y la modificación del sistema microvascular, con el consiguiente aumento intrahepático de la presión portal ⁹¹. En la enfermedad hepática crónica la producción de proteínas de MEC está plenamente establecida en un ambiente en que la degradación está inhibida. Esa es clave de la evolución de la fibrosis hepática: el desequilibrio entre la degradación de la MEC mediado por las TIMP y la producción de MEC, a favor de ésta última ^{93, 94, 95, 96, 97}.

Por otro lado, en los últimos años también se ha estudiado el potencial fibrogénico de las proteínas del VHC, especialmente las del core, NS3 y NS5A. Todas ellas interactúan con la mitocondria del hepatocito, aumentando los radicales libres dentro de la célula, el cual induce esteatohepatitis y la producción del TGF- β . Además, parecen inducir la acumulación y degradación de los depósitos de lípidos.^{98, 99} Algunos estudios han mostrado como la proteína del core de VHC regula eventos que inducen la hepatocarcinogénesis ^{100, 101}.

Se ha comprobado que todos estos procesos requieren de una cierta predisposición genética a través de diferentes polimorfismos, y que explicarían las diferencias individuales de la evolución de la fibrosis en el tiempo ⁹⁹. Entre los más

importantes se encuentra la sustitución de prolina a arginina en la posición 25 del precursor de la TGF-β, y el polimorfismo en posición 6 del gen de la angiotensina. El estudio de Powell et al ¹⁰², los pacientes con ambos polimorfismo presentaba F 2-3 comparado con el F0-1 de pacientes con características similares sin ninguno de los polimorfismos.

1.5.3.-Factores de progresión de la fibrosis hepática

La evolución de la fibrosis hepática no es lineal, sino un proceso en el que existen diferentes factores que influyen en su evolución, relacionados con el huésped y con el virus. Entre los factores que dependen del huésped se encuentran: la edad del paciente en el momento del diagnóstico, que condicionará una mayor severidad histológica y una más rápida evolución clínica ^{22, 85, 103}, el sexo masculino (aunque sobre ello no hay consenso), la ingesta de alcohol, las co-infecciones por VHB y VIH, y algunos estudios hablan del papel de los alelos del complejo HLA clase II en la evolución de la enfermedad ^{104, 85, 77}. La identificación de todos los factores predictivos de progresión de la fibrosis permitiría la selección de aquel grupo de pacientes que requeriría un seguimiento más estrecho.

Las limitaciones para conocer la evolución de la fibrosis incluyen ¹⁰⁶ la dificultad de obtener biopsias hepáticas pareadas, la necesidad de un gran número de pacientes para alcanzar poder estadístico, la variabilidad de la muestra en la distribución de la fibrosis y la dificultad en conocer el período comprendido entre la primoinfección y la biopsia. Poynard en 1997 publicó un amplio estudio con 2235 pacientes ⁷⁷ (**Fig. 10**), donde presentaba un Índice de progresión de fibrosis hepática en años, conociendo los años de duración de la infección y el índice de fibrosis hepática (METAVIR). No obstante, una limitación importante es conocer los años de duración de la infección, debido a su carácter predominantemente asintomático.

$$\begin{aligned} \text{PROGRESIÓN DE FIBROSIS HEPÁTICA POR AÑO:} & \frac{\text{Estado de fibrosis (Metavir)}}{\text{Duración de la infección (años)}} \\ \text{(FRP)} & \\ \\ \text{REGRESIÓN DE FIBROSIS HEPÁTICA POR AÑO:} & \frac{\text{Fibrosis biopsia pre tratam} - \text{Fibrosis post tratam}}{\text{Años entre una y otra biopsia}} \\ \text{(Metavir)} & \\ \\ \text{TIEMPO A CIRROSIS:} & \frac{4 \text{ (de F4 de Metavir)}}{\text{Progresión de fibrosis hepática por año}} \\ \text{(TTC)} & \end{aligned}$$

Fig. 10: Fórmulas de progresión/regresión de fibrosis hepática/año. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. *Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. Lancet. 1997;349(9055):825-832.*

A) Factores relacionado con el virus

El principal factor es la virulencia del propio virus a través de la activación del sistema inmune del huésped y la habilidad para escapar a la actividad antiviral del IFN y de su producción a través del bloqueo que produce la proteína NS3/4A. Otros factores propios del virus, como la carga viral y el estado de fibrosis, no han mostrado correlación en diferentes estudios^{77, 105, 106}.

El papel del genotipo del VHC en la progresión de la enfermedad hepática es uno de los puntos más controvertidos⁴¹. Aunque en la reciente guía clínica de la hepatitis C de la EASL¹⁰⁷ se afirma que la progresión de la fibrosis hepática en la infección crónica por VHC es independiente del genotipo y la carga viral, hay estudios en los que la fibrosis está relacionada con el genotipo^{108, 109}. Una posible explicación es que los pacientes con genotipo 1 tienen una edad más avanzada que los de otros genotipos, por lo que el mayor grado de fibrosis estaría en relación con un mayor tiempo de infección., no tanto a una mayor agresividad de dicho genotipo.

En 2001, Poynard publicó que la asociación entre el grado de fibrosis y el genotipo 3 está en relación a la esteatosis que produce dicho genotipo^{105, 110, 111}, lo cual, parece que se confirma en estudios más recientes, que sugieren una asociación entre el genotipo 3 y la progresión acelerada de la enfermedad hepática^{111, 112, 113}. En 2011, Probst et al¹¹² publicaron un meta-análisis que evalúa la asociación entre el genotipo del VHC y la progresión de la fibrosis en pacientes adultos sin tratamiento previo cuyo ratio de progresión de fibrosis (FRP) fue evaluada mediante la relación entre la duración de la infección y una única biopsia o bien, por la evolución entre dos biopsias (media del intervalo entre biopsia entre 2 años y 12 años). Se recogieron datos de 16 estudios, 8 de ellos con una única biopsia y otros 8 con biopsias pareadas. De los 16 estudios, 8 eran de pacientes mono infectados VHC, 2 incluían mono y co-infectados VHC-VIH, otros 2 estudios eran pacientes co-infectados VHC-VIH, y los 4 restantes no daban información al respecto. El odds ratio para la asociación del genotipo 3 con la progresión de la fibrosis acelerada fue de 1,52 (IC 95% 1.12-2.07, $p = 0.007$) en los estudios de biopsia única y 1.37 (IC 95% 0.87-2.17, $p = 0.17$) en los estudios de biopsia pareadas, sin significación estadística. Los autores concluyen que esto puede ser por la limitación de los estudios de pequeño tamaño muestral y por el

corto periodo de observación, y que está relación entre la evolución de fibrosis y el genotipo 3 esté en relación con la esteatosis que produce dicho genotipo.

B) Factores relacionados con el huésped

Poynard et al. analizó los posibles factores asociados con la progresión de la fibrosis constatada en la biopsia hepática. Este estudio reveló que son los factores del huésped, más que los factores virales, los que influyen en la progresión de la lesión histológica. En concreto, la edad, el consumo de alcohol y el sexo masculino parecen tener mayor valor pronóstico ⁷⁷. Los factores con más fuerte correlación de evolución de la fibrosis son la edad y la duración de la infección ¹⁰⁵.

Forns et al publicó el seguimiento de un grupo de 116 pacientes diagnosticados en los años 70 de hepatitis crónica por virus C. Un 39.3% de los pacientes evaluados evolucionaron a cirrosis hepática hallándose como único factor asociado al desarrollo de la misma un valor AST > 70 U/mL en el momento del diagnóstico de la infección viral. El único factor predictivo de descompensación de la cirrosis hepática, que ocurrió en un 10.5%, fue la presencia de fibrosis en estadio 2 o 3 en el momento del diagnóstico ¹¹⁴. Otro de los factores importantes en la progresión de fibrosis fue nuevamente la edad y se ha relacionado no sólo con los años de evolución de la infección, sino con la alteración de la inmunidad y el estrés oxidativo que se observa a mayor edad.

El género es un factor controvertido, con estudios en que relacionan el sexo masculino con mayor índice de fibrosis y más rápida evolución, no siendo estadísticamente concluyente en otros. La explicación que se ha dado para el hecho de que los varones presenten una evolución menos favorable, es la exposición estrogénica que tiene las mujeres, lo cual reduce el índice de fibrosis

¹¹⁵

Los factores metabólicos también están relacionados con la evolución de la fibrosis hepática. Por ejemplo, la esteatosis hepática está asociada con más actividad necro-inflamatoria y fibrosis hepática: Hay estudios que han demostrado que la esteatosis está más relacionada con la infección por el genotipo 3, factores metabólicos (obesidad, dislipemia, DM y la resistencia a la insulina), el consumo

de alcohol y fármacos como los corticoides, o drogas como el cannabis. Además, las propias proteínas del core estimulan la esteatosis a través de la activación intracelular del metabolismo lipídico^{98, 99}. Los pacientes obesos tienen estados de fibrosis hepática más avanzada que pacientes más delgados, pero en algunos estudios, la obesidad no es un factor independiente de otros, como puede ser la hiperglicemia/DM. Este hecho se ha relacionado porque en la mayoría de los estudios no se diferencia entre grasa visceral y periférica, siendo sólo la primera la que está relacionada con la resistencia a la insulina y sus complicaciones, entre ellas la esteatosis hepática.^{115, 116, 117} Hus et al, asoció el $IMC \geq 30$ a fibrosis F3-F4 con una odds ratio de 1.92 (IC 95%)¹¹⁸.

La resistencia a la insulina y la DM-II se ha relacionado con una rápida evolución de la fibrosis hepática en paciente con hepatitis C, aunque existen controversias al respecto. En algunos estudios¹¹⁹ queda claro la relación independiente entre la resistencia a la insulina, provocada por efecto directo del virus, y la progresión de la fibrosis. Estudios más recientes muestran que la resistencia a la insulina en la hepatitis C no parece estar causada por aumento sérico de las adipocitoquinas leptina y adiponectina comparado con controles sanos (emparejados por edad, IMC e índice cintura-cadera), pero sí con el índice HOMA-IR (homeostasis model assessment- insulin resistance), TNF- α e IL-6. En cambios, al estudiar los predictores independientes de HOMA-IR fueron el IMC y la leptina¹²⁰. Otros estudios a nivel bioquímico muestran cómo la infección crónica por VHC altera la señalización de la insulina en la membrana, así como la homeostasis celular de la glucosa mediante la fosforilación de la glucógeno sintasa y GSquinasa isoforma 3β , por lo que se induciría resistencia a la insulina (RI). Esto se confirma con la reversión de estos efectos moleculares en células curadas del VHC mediante el interferón¹²¹.

El consumo de alcohol ($>40g/día$ en ♀ y $> 60g/día$ en ♂) se relaciona también con la progresión de la fibrosis hepática^{122, 123}.

El aumento de la AST ≥ 2 veces ULN se asocian también a evolución a fibrosis F3-F4^{10, 118}. Pacientes con transaminasas repetidamente normales muestran un índice de progresión de fibrosis más lento que pacientes con transaminasas elevadas; sin embargo un 15-20% de estos pacientes tienen un

índice de progresión moderado-alto, aumentando el porcentaje en pacientes de >65 años ^{106, 124}.

Otros factores asociados a la progresión de la fibrosis hepática son la co-infección por VIH, CD4 < 200/mL, consumo de cannabis ^{125, 126}, a través de los receptores cannaboides CB1, que incrementan la fibrosis y esteatogenesis hepática.

1.6.-MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE FIBROSIS HEPÁTICA

Resulta difícil predecir la evolución natural de la hepatitis C, como se ha visto previamente, pero el grado de actividad de necrosis e inflamación y de la fibrosis es un rasgo determinante en la evolución de la hepatitis C ¹²⁸.

1.6.1.- Biopsia hepática ¹²⁹

La biopsia hepática es una técnica desarrollada por el Dr. al Hammersmith durante la década de los 40 del siglo pasado, siendo introducida en la práctica clínica por la Dra. Sheila Sherlock. El resultado fue una publicación en la revista Lancet en el año 1943 sobre la patología de la hepatitis aguda ¹³⁰. Con los años la técnica ha evolucionado y actualmente se puede realizar mediante tres abordajes: por vía percutánea, por vía transyugular o bien guiada por laparoscopia ¹³¹.

La biopsia hepática es una importante herramienta de evaluación en los pacientes con enfermedades hepáticas crónicas. El pronóstico y el manejo clínico de las mismas dependen directamente de la cantidad y localización de la fibrosis hepática (“estadio” de la enfermedad), y del grado de actividad inflamatoria y la necrosis lobular (“grado” de enfermedad). La biopsia hepática es el único test que nos puede dar información sobre ambos, además de poder ser útil para conocer la etiología de la hepatopatía, si fuera necesario. Los hallazgos histológicos en la hepatitis crónica C no son patognomónicos, pero existen rasgos que ayudan a diferenciarlos de otras hepatitis crónicas.

Se basa en la evaluación directa de la gravedad histológica de la enfermedad hepática. Se han validado varios sistemas de clasificación histológicos para evaluar el grado de fibrosis y al grado de necroinflamación en hepatitis crónica. Durante muchos años se ha considerado el “gold standard” para el diagnóstico etiológico y el estadiaje de la fibrosis hepática, no obstante, tiene una serie de limitaciones, entre ellas la variabilidad intra e interobservador, pudiendo llegar a tener una tasa de diferencia en el estadiaje de hasta un 20 %^{8, 131}, aunque la variabilidad interobservador se ha minimizado con el uso de sistemas de evaluación estandarizados (Knodell, METAVIR y otros).

Las directrices más recientes sobre las recomendaciones del uso de la biopsia hepática provienen de la AASLD¹³², indicando la misma en las siguientes circunstancias:

1. Cuando el conocimiento de un diagnóstico específico es probable que altere el manejo de la patología (Clase I, Nivel B).
2. La histología hepática es un complemento importante en el manejo de los pacientes con enfermedad hepática conocida, particularmente en situaciones en las que el pronóstico sobre el estadio de fibrosis puede orientar el tratamiento (Clase I, Nivel B).

En cuanto a las características de la muestra histológica, se recomienda:

1. Toma de muestras de al menos 2-3 cm de largo y calibre de 1.6 cm (Clase I, Nivel C).
2. Presencia al menos 11 espacios porta completos (Clase I, Nivel C).
3. Uso de métodos de estadiaje simple, como METAVIR (Clase I, Nivel C). Sistemas más complejos como el Knodell¹³³ o su forma revisada, el Ishak¹³⁴, fueron sobretodo ideados para la clasificación de hepatitis virales. Son más adecuados para el análisis estadísticos de grandes cohortes, siendo más útil en pacientes concretos el uso de sistemas más simples como el METAVIR¹³⁵.

Mehta et al¹³⁶, sugieren que la biopsia hepática es el mejor estándar de referencia, pero no el “estándar de oro”. El rendimiento de los posibles sustitutos de la biopsia es evaluado mediante el cálculo del área bajo la curva (AUROC) usando el AUROC de la biopsia como referencia. El AUROC de un sustituto de la biopsia representa la probabilidad de que discriminará correctamente a dos pacientes

randomizados, uno con biopsia hepática normal y otro con biopsia hepática que muestra “enfermedad”. Dado que la biopsia hepática no es un “gold estándar”, aunque sí el mejor de los posible estándares, ningún sustituto alcanzará el máximo valor, es decir, valor máximo = 1, ya que ni la biopsia lo alcanza. Teniendo en cuenta el rango de precisión de la biopsia y la prevalencia de fibrosis significativa (ambas influyen en el valor de la AUROC), Mehta et al demostraron que en el escenario más favorable, un AUROC > 0,90 no se puede lograr cuando se evalúa la fibrosis significativa.

Esto es importante por varias razones. En primer lugar, porque hay estudios que ya han demostrado AUROC máximas en métodos diferentes a la biopsia cuando se evalúa “cirrosis sí” vs “cirrosis no”, lo que sugiere que pueden ser tan buenos como la biopsia para el diagnóstico de la cirrosis.

En segundo lugar, Metha et al sugieren que un método definitivo para la evaluación del rendimiento de estos nuevos marcadores se habría de dirigir más hacia un “end point” clínico que compararlos con la biopsia. Las principales alternativas a la biopsia de hígado que han sido desarrollado en los últimos 10 años se basan en dos conceptos muy diferentes: marcadores séricos y la rigidez (stiffness) hepática.

Hay diferentes clasificaciones para valorar la biopsia hepática:

1. La puntuación de Knodell ¹³⁷ es una calificación cuantitativa consta de cuatro puntajes individuales que representan periportal y / o puentes de necrosis, degeneración focal y necrosis intralobular, inflamación portal y fibrosis; aunque es útil para evaluar la actividad inflamatoria, la puntuación de Knodell incluye sólo tres estadios de fibrosis, lo que limita su exactitud.
2. El índice Ishak, una versión revisada de la puntuación de Knodell, pero con seis estadios de fibrosis ¹³⁴.
3. Otro de los sistemas más utilizados, es el índice METAVIR ¹³⁶, semicuantitativo, que informa del grado de fibrosis e inflamación.

A) Características óptimas de la biopsia hepática

Bedossa y cols ¹³⁸ en un estudio basado en 17 muestras quirúrgicas hepáticas (índice METAVIR) de pacientes con VHC, se concluyó que una biopsia hepática adecuada debería tener un tamaño de aproximado de 25 mm. En un estudio posterior ⁸ se definió que la biopsia hepática representa aproximadamente de 1/50,000 de la masa hepática total, y se considera que el tamaño adecuado es entre 20-25 mm de longitud con una media de 16 espacios porta completos, siendo el mínimo necesario de 11 ¹³⁹.

Las dos técnicas principales de biopsia son: percutánea (BHP) y la transyugular (BHTY). Las agujas más usadas son las de succión (Menghini) y las de corte (Tru-Cut), y el diámetro puede ser >1.0 mm (14-19 gauge) o <1.0 mm (≥ 20 gauge). La técnica más usada es la percutánea, que se realiza mediante anestesia local. La transyugular se usa desde 1970 como alternativa a la percutánea en pacientes de alto riesgo: obesidad mórbida, importante ascitis o severa coagulopatía. Esta técnica tiene la ventaja de que permite medir el gradiente de presión venoso; la mortalidad es de <0.5%, y las complicaciones (entre 0.1-20%) incluyen dolor abdominal, arritmias, perforación capsular, y más raramente, hemorragia intraperitoneal ⁸.

La biopsia percutánea tiene pocas complicaciones y éstas son aún menores cuando se hacen guiadas por ecografía. Sin embargo, no deja de ser una exploración invasiva con riesgo de complicaciones graves. En una extensa revisión de García Tsao ¹⁴⁰ en la que se examinan un total de 186.017 pacientes, procedentes de 6 series, a los que se les había practicado una biopsia con ingreso hospitalario, el porcentaje de complicaciones oscila entre el 0.12 % y 0.63% con una media del 0.28%, y una mortalidad global del 0.03%. Las complicaciones más graves y las únicas responsables de mortalidad son las complicaciones hemorrágicas que en la serie de Piccinino ¹⁴¹ fue del 0.63%, la mitad de las cuales fueron en forma de hemoperitoneo; las complicaciones aparecieron durante las primeras dos horas en el 60% de los pacientes y en las primeras seis horas en el 82%. La mortalidad ocurre aprox. en 1 paciente por cada 100.000.

En la revisión de García Tsao ¹⁴⁰ también se analizaron nueve series de PBH ambulatorias, desde 1972 hasta 1992, que incluyen un total de 2.166

procedimientos, con un 2.8% de complicaciones, de las cuales un 1% son hemorrágicas. La mayoría de estas complicaciones aparecen en las tres horas posteriores a la biopsia, y aunque las complicaciones son más frecuentes que en las de pacientes hospitalizados, son de menor gravedad, probablemente porque la biopsia ambulatoria se indica en pacientes menos graves.

El tiempo de observación después de practicar la biopsia varía en los diferentes centros, considerando segura la observación durante un período de 4 a 6 horas ¹⁴². En nuestro centro se realiza la biopsia hepática percutánea de forma rutinaria ambulatoriamente. En una revisión realizada desde enero del año 2000 hasta enero de 2002, en nuestro centro se realizaron un total de 320 biopsias (250 de manera ambulatoria), sin complicaciones en el 64% de los pacientes. Las complicaciones más frecuentes fueron dolor controlado con analgesia (3.2%), cuadro vagal (3.2%) y sólo dos pacientes (0.8%) requirieron ingreso por hematoma subcapsular ¹⁴³ sin necesidad de cirugía y con buena evolución posterior.

B) Variaciones intra e interobservador

La fibrosis hepática no tiene una afectación homogénea a través del hígado, y la del estadio de fibrosis hepática puede variar en la biopsia hepática en al menos 1 estadio en más del 34% de los pacientes ^{77, 135, 131}. En 2002, Regev y col. observaron que las biopsias realizadas en lóbulos hepáticos derecho e izquierdo del mismo hígado, pueden diferir en un tercio de los pacientes con infección crónica VHC en el estadio, la mayoría en un solo grado, tras ser evaluadas por el mismo observador ¹³¹.

Collaredo et al. ¹³⁹ analizó el impacto del tamaño de la muestra de la biopsia hepática en 161 muestras, en pacientes con VHB y VHC, usando el sistema Ishak. La longitud de las muestras fue de ≥ 3 cm y el ancho de 1.4 mm. Posteriormente, se repitió la estadificación a ciegas mediante la reducción de la longitud a 1,5 cm y 1 cm, y la anchura a 1 mm. La reducción de la longitud resultó en un incremento diagnóstico del grado leve de fibrosis, porque había menos cantidad de tejido hepático para evaluar. Se concluyó que era necesario una muestra de 20 mm o más y / o que contiene 11 o más tractos portales completos

para la evaluación fiable de clasificación de la fibrosis hepática. Estos criterios se han adoptado rápidamente a los estándares óptimos ⁸.

Por tanto, los estándares en el tamaño de la biopsia y el número de espacios porta, ha minimizado las diferencias intra/interobservador, aunque para ello ha sido necesario aumentar el tamaño de la aguja y el número de pases para obtener la muestra, lo que puede aumentar el riesgo de complicaciones.

La utilización de índices histológicos y su valoración por histólogos especializados aumenta la rentabilidad de la evaluación. Hay varias publicaciones que valoran las diferencias intra e inter observador. En 1994, P. Bedossa ¹⁴⁴ publicó un estudio basado en la revisión de 30 biopsias hepáticas con afectación por VHC por 10 patólogos agrupados por parejas, calculando la variación de 27 variables entre cada uno de los 10 patólogos (interobservador) y entre cada miembro de cada una de las 5 parejas (intraobservador), los cuales realizaban la observación de forma simultánea. Los ítems de mayor concordancia interobservador fueron: cirrosis, grado de fibrosis, índice de Knodell, presencia de esteatosis y presencia de agregados linfoides). En cuanto a los ítems de mayor concordancia intraobservador, fueron: índice de Knodell, grado de necrosis, grado de fibrosis centrolobulillar, proliferación ductal y existencia de esteatosis.

Coton T et al ¹⁴⁵ evaluaron la reproductibilidad inter observador entre el index Knodell y el index METAVIR en 60 biopsias separadas entre 15 y 83 meses, de 30 pacientes con VHC. La calidad técnica de las muestras discordantes era peor que en las biopsias en las que los patólogos coincidían (tamaño, tasa de fragmentación, número de espacios porta). La tasa de concordancia más alta era en el parámetro fibrosis, que fue del 95% para Knodell y del 92% para METAVIR.

C) Clasificación histológica de la fibrosis: Knodell y METAVIR

Cada sistema de gradación asigna una puntuación numérica a cada una de las tres alteraciones principales (inflamación de los tractos portales, necrosis y apoptosis del parénquima y fibrosis), y de esta manera, se pueden comparar diferentes biopsias.

Uno de los sistemas de puntuación más empleados es la puntuación HAI (histology activity index) o índice de Knodell, que mide el grado de actividad histológica basándose en cuatro parámetros (necrosis periportal, necrosis lobulillar, infiltrado inflamatorio porta y fibrosis) ¹³⁷. Posteriormente Ishak y col. realizaron una modificación sobre este índice e introducen un espectro más amplio y completo del grado de necroinflamación ^{146, 147}. En 1996 el grupo METAVIR realiza un algoritmo para graduar la actividad en la hepatitis crónica C, evaluando de manera independiente la necrosis periportal o necrosis erosiva periportal (“Piecemeal” necrosis), la necrosis lobulillar y el grado de fibrosis hepática ¹³⁵.

Estos sistemas de clasificación histológica tienen algunas limitaciones, entre ellas el que sea cualitativo y por tanto las diferencias de gravedad de la lesión pueden no representarse por la puntuación. Por otro lado, mezclan la inflamación con la fibrosis y la puntuación total de dos biopsias puede ser la misma, pero no el grado de lesión histológica. Asimismo extrapolan los datos de una pequeña porción de tejido con la afectación del hígado.

* **Índice de Knodell (Histology activity Index –HAI)-** ¹³⁷

Puntuación combinada para necrosis, inflamación y fibrosis. El método Knodell evalúa tres lesiones necroinflamatorias en 4 categorías (0, 1, 3, 4): la necrosis focal y degeneración intralobular, inflamación portal y fibrosis. Y por otro lado, evalúa en 7 niveles (0, 1, 3, 4, 5, 6 y 10) la necrosis periportal. La suma de las lesiones da lugar al HAI, con una evaluación entre 0-22.

En la descripción original del índice Knodell, la fiabilidad inter e intra observador fue buena, pero hay que tener en cuenta que el índice sólo fue validado para 5 pacientes (14 biopsias), uno de ellos con hepatitis B y los otros 4 con hepatitis no A-no B. Colaboraron 3 patólogos y otros 3 patólogos especializados en muestras hepáticas. (**Fig. 11**). Unos años más tarde, un estudio evaluaba el índice Knodell entre 10 patólogos usando 30 muestras de biopsias de pacientes documentados como VHC. La correlación inter e intra observador sólo fue buena para la puntuación de fibrosis ¹⁴⁴. Y aunque tiene varias limitaciones, como la de una relativa baja sensibilidad para valorar los cambios en la fibrosis, sigue siendo uno de los índices más usados en la práctica clínica y en las publicaciones.

* **Índice METAVIR**^{135, 148}. (Fig. 12)

El índice METAVIR fue diseñado y validado específicamente para los pacientes con hepatitis C. Se trata de un sistema de clasificación semicuantitativa que evalúa la fibrosis (escala de 5 puntos) y actividad histológica (escala de 4 niveles) de manera independiente. A diferencia del HAI propuesto por Knodell, el METAVIR se trata de un sistema lineal y más ajustado a la realidad, ya que incluye F2.

La fiabilidad inter e intraobservador de la actividad y la fibrosis puntuación del sistema METAVIR son similares a la puntuación de Knodell. En un estudio de 1994¹⁴⁴, los coeficientes de kappa de la puntuación de actividad del índice METAVIR y de la HAI, así como la puntuación de fibrosis METAVIR y Knodell, fueron similares (aprox. 0,5 y 0,8, respectivamente). En un estudio posterior⁷⁷ observó que la concordancia entre observadores de la puntuación METAVIR depende de forma muy importante de la experiencia del patólogo. A esto se añade el tamaño de la muestra¹⁴⁹, teniendo en cuenta la puntuación de fibrosis de una muestra de 20 mm como el tamaño de referencia.

Componente	Rango de puntos
1. Necrosis periportal	0-10
2. Necrosis focal y degeneración intralobulillar	0-4
3. Inflamación portal	0-4
4. Fibrosis	0-4

Necrosis periportal en puente	Puntos	Degeneración intralobulillar y necrosis focal (1)	Puntos	Inflamación portal	Puntos	Fibrosis	Puntos
Ninguna	0	Ninguna	0	Sin inflamación	0	Sin fibrosis	0
Necrosis progresiva leve	1	Leve	1	Leve	1	Expansión portal	1
Necrosis moderada	3	Moderada	3	Moderada	3	Fibrosis en puentes (unión porto-portal o porto-central)	3
Necrosis progresiva marcada	4	Marcada	4	Intensa	4	Cirrosis	4
Necrosis progresiva moderada más necrosis en puente (2)	5						
Necrosis progresiva marcada más necrosis en puente (2)	6						
Necrosis multilobulillar (3)	10						

La puntuación HAI es una puntuación combinada de necrosis, inflamación y fibrosis

(1) Degeneración: cuerpos acidófilos. Necrosis focal: focos diseminados de necrosis hepatocelular
(2) Necrosis en puentes: definida por la presencia de ≥ 2 puentes en la muestra
(3) Dos o más lóbulos contiguos con necrosis panlobulillar.

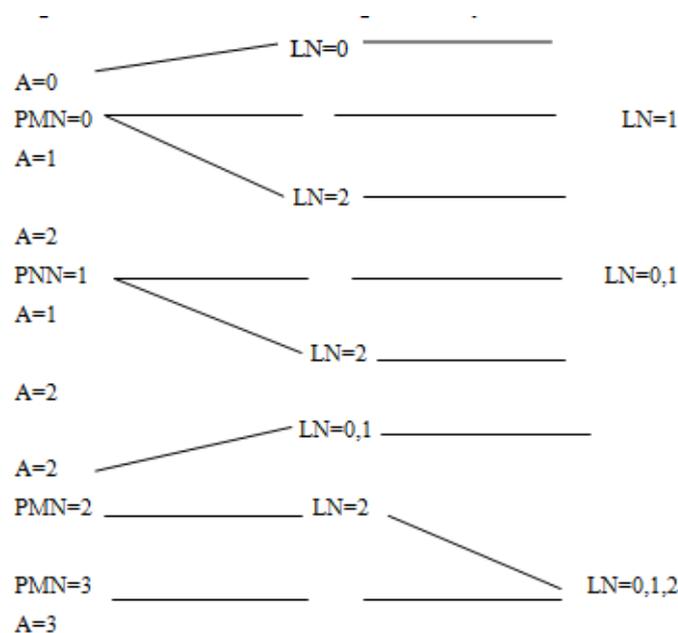
Fig. 11: Índice Knodell (Modificado de Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1 (5):431-435)

Por lo tanto, la principal ventaja de la puntuación METAVIR para la hepatitis C es su relativa simplicidad y su mayor sensibilidad en el índice de fibrosis debido a la adición de un nivel extra de fibrosis. Sin embargo, muchos de las limitaciones de la puntuación Knodell también se aplican a la puntuación METAVIR.

Se ha creado una fórmula matemática para transformar la fibrosis por puntuación Knodell a METAVIR:

$$\text{Fibrosis METAVIR} = (\text{Fibrosis Knodell} \times 0,8780) + 0,2775$$

Grado: Actividad: Inflamación		Etapa: cantidad de fibrosis	
Ausente	0	Ausente (sin cicatrices)	0
Leve	1	Leve: fibrosis portal sin tabiques (cicatrices alrededor del espacio porta)	1
Moderada	2	Moderada: pocos tabiques	2
Intensa	3	Intensa: numerosos tabiques con cirrosis	3
Muy intensa	4	Cirrosis (cicatrices graves en torno al lóbulo)	4



PMN: Piecemeal necrosis; 0: ninguna; 1: leve; 2: moderado; 3: severo
LN: Necrosis lobular; 0: ninguna o leve; 1: moderado; 2: severo
A: actividad histológica; 0: ninguna; 1: leve; 2: moderado; 3: severo

Fig. 12: Índice METAVIR y algoritmo para la evaluación de la actividad histológica en el índice METAVIR. (Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. Hepatology. 1996;24(2):289-293)

D) Biopsia hepática: ¿es necesaria?

Hasta hace unos años, la biopsia hepática se consideraba indicada en pacientes con hepatitis crónica C con transaminasas elevadas, sobre todo en aquellos en que se planteaba un tratamiento antiviral. En la actualidad, el estadio de fibrosis puede evaluarse por métodos no invasivos, reservando la biopsia hepática para los casos en que hay dudas, coexisten otras posibles causas o cuando hay discordancias entre los signos clínicos y/o ecográficos y el grado de fibrosis evaluada por métodos no invasivos.

Hasta el momento, la biopsia hepática es la única herramienta diagnóstica que nos ofrece la medida más próxima a la exactitud de la gravedad de la enfermedad, evaluando la severidad de la inflamación y el grado de fibrosis, pese a sus limitaciones, las cuales han conducido al desarrollo de métodos no invasivos para la evaluación de la fibrosis hepática, aunque la biopsia se mantiene dentro del arsenal diagnóstico.

1.6.2.- Índices predictivos de fibrosis hepática

Las principales alternativas a la biopsia hepática se han desarrollado en los últimos 10 años, basados en dos conceptos diferentes: marcadores séricos y la elasticidad hepática (FibroScan®)

Los marcadores séricos son combinaciones de varios parámetros sanguíneos que están optimizados para reflejar el grado de fibrosis hepática, intentando maximizar el algoritmo diagnóstico para hacer coincidir el índice predictivo con las etapas histológicas según lo evaluado mediante biopsia hepática ¹⁵⁰. Los índices basados en marcadores séricos, a diferencia del FibroScan®, han sido confeccionados para imitar a la biopsia hepática.

Se trata de métodos sensibles y específicos para diagnosticar presencia o ausencia de cirrosis, pero en los estadios intermedios o cuando se consideran sólo las etapas adyacentes (F1vsF2 o F2vsF3), los valores AUROC son algo más bajos ¹⁵¹.

Hasta el momento, ninguno de los métodos no invasivos pueden distinguir claramente entre los estadios intermedios de la fibrosis, y en muy pocos de los estudios

de marcadores no invasivos, al comparar el resultado del test con la biopsia, se informa de las características de ésta (tamaño y número de espacios porta), ni del tamaño de la aguja. En aquellos en que sí que se aporta dicha información, no se cumplen el tamaño mínimo adecuado, excepto en el 15% de las biopsias del estudio HALT-C.⁸

Hasta la actualidad, se han publicado diversos marcadores no invasivos de cirrosis hepática que incluyen datos clínicos y/o analíticos^{152, 153, 154, 155, 156, 157}. Así mismo, también se han publicado artículos que han asociado signos ecográficos con la presencia de cirrosis hepática^{158, 159, 160, 161}. Actualmente, las guías de la asociación europea para el estudio del hígado (EASL) recomiendan el uso de métodos no invasivos, entre ellos, los biomarcadores séricos para el diagnóstico de fibrosis significativa en hepatitis crónica por VHC¹⁰⁷, con un nivel de predictibilidad suficientemente seguro. Tanto la medida de la rigidez hepática como los biomarcadores dan buenos resultados en la identificación de la cirrosis o la ausencia de fibrosis, pero los resultados no son tan buenos a la hora de diagnosticar los grados intermedios de fibrosis. En caso de que se obtengan resultados contradictorios con el empleo de marcadores no invasivos, puede estar indicada la biopsia hepática. **Fig. 13.**

Marker	Description	Settings in which validation exists
AST/ALT	AST to ALT ratio	HCV, HBV
APRI	AST to platelets ratio index	HCV, HBV, HIV/HCV
Forns' index	Age, BMI, γ GT, cholesterol	HCV, HBV, HIV/HCV
Fibrotest	Age, gender, α -2-macroglobulin, γ GT, haptoglobin, apolipoprotein A1, total bilirubin	HCV, HBV, ALD, NAFLD, HIV/HCV
ELF	Age, hyaluronic acid, type III procollagen, TIMP1	HCV, ALD, NAFLD
Hepascore	Bilirubin, γ GT, hyaluronic acid, α -2-macroglobulin, age, sex	HCV
Lok index	AST, ALT, platelets, INR	HCV
Fibroindex	AST, platelets, g-globulins	HCV
Fibrometer	Age, AST, platelets, hyaluronan, INR, α -2-macroglobulin, urea	HCV
Fibrospect	α -2-macroglobulin, hyaluronan, TIMP1	HCV
Fib-4	Age, AST, ALT, platelets	HCV, HBV, HIV/HCV

Fig. 13: Índices no invasivos en diagnósticos de cirrosis hepática. (Poynard T, Morra R, Halfon P, et al. *Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. BMC Gastroenterol. 2007;7:40*)

Hay dos tipos de test no invasivos (NIT)¹⁶².

- A) Los basados en marcadores serológicos. Algunos marcadores séricos tanto directamente implicados en el remodelado que tiene lugar en la fibrosis hepática como aquellos alterados como consecuencia de ésta, parecen estar correlacionados con el grado de fibrosis hepática, diseñándose test mediante modelos estadísticos.

1. Indirectos, basados sobre pruebas diagnósticas hematológicas de rutina: Bonacini ¹⁵⁷, Forns ¹¹⁵⁶, Fibroindex ¹⁶³, APRI ¹⁶⁴ y APRI modificado, HALT-C ó Lok index ¹⁶⁵ y PGAA ¹⁶⁶.
2. Directos, que miden componentes profibróticos en el suero del paciente. Normalmente se utilizan solos o en combinación con los anteriores, lo cual incrementa su exactitud diagnóstica. Fueron los primeros marcadores propuestos para la valoración de la fibrosis hepática. Los más estudiados han sido los niveles de hialuronato sérico, laminina y YKL-40, de la familia de las glicoproteínas; o de la familia del colágeno, como el procolágeno III y el colágeno tipo IV, y las colagenasas y sus inhibidores, como MMPs.
Una de las principales limitaciones para el uso clínico de los índices directos, es que no son útiles para su uso rutinario, dado que no están disponibles en la mayoría de los hospitales. Otra limitación es que ninguno es específico del hígado y pueden ser influido por los cambios en su aclaramiento y excreción, en pacientes ancianos con enfermedades crónicas, como la artritis reumatoide, con resultados falsos positivos relacionados con la hemólisis y el síndrome de Gilbert, o resultados falso-negativos relacionados con la inflamación ¹⁶⁷.
3. Algunos NIT combinan métodos directos e indirectos, de acuerdo a modelos matemáticos, como el FibroTest® ¹⁶⁸, el Fibrometer® ¹⁶⁹, Hepatoscore® ¹⁷⁰, ELF® ¹⁷¹ y FibroSpectII® ¹⁷²

B) Métodos basados en técnicas de imagen. Con ellos se pueden detectar cambios estructurales, pero su exactitud diagnóstica para la detección del estadio de fibrosis es baja. La ecografía diagnóstica predice cirrosis en más del 90% de los casos usando 2 ó 3 parámetros cuantitativos o cualitativos ¹⁶². La técnica que predice fibrosis significativa (METAVIR ≥ 2) o cirrosis con mayor exactitud diagnóstica (ROC curves con 0.74 y 0.94 respectivamente) es el FibroScan® ¹⁷³. Los principales factores limitantes del mismo es su precio y el hecho de que hay un porcentaje de pacientes, sobretodo obesos, en que no es posible su realización por interposición de grasa o en pacientes muy delgados al presentar un espacio intercostal muy estrecho.

Ninguno de estos test no invasivos pueden distinguir entre los diferentes estadios de fibrosis, y por algunos autores, son considerados menos fidedignos que la biopsia

hepática ¹⁷⁴ y además, pocos estudios han sido realizados fuera de la hepatitis crónica por VHC ⁸.

A) Marcadores no invasivos serológicos de fibrosis hepática, directos, indirectos y mixtos.

Después de 20 años, desde que se publicó el primer biomarcador ¹⁷⁵, aún persisten controversias sobre el uso de los índices más validados vs la biopsia hepática ^{174, 176, 177, 178, 179}. Existen tres hechos con los que la mayoría de los especialistas están de acuerdo con respecto a los biomarcadores ^{180, 181}:

1. Los biomarcadores son adecuados para el cribaje de fibrosis en grandes poblaciones.
2. La biopsia, aún con un tamaño adecuado, presenta un 35% de falsos positivos y falsos negativos en el diagnóstico del estadio de la fibrosis.
3. El FibroTest® y el FibroScan® son los dos marcadores no invasivos más validados para el diagnóstico de fibrosis avanzada, con una precisión cercana al 80% cuando la biopsia hepática es tomada como referencia.

Cuando se comparan y validan de forma externa diferentes índices, presentan resultados similares a los estudios iniciales en cuanto al diagnóstico de fibrosis significativa ^{182, 183, 184, 185, 186}. En el mayor estudio hasta la fecha ¹⁸⁷, con una N= 1307, en el que se compara de forma prospectiva varios índices (FibroTest®, Fibrometer®, HepaScore® y APRI), las AUROCs variaron desde 0,72 hasta 0,78 para la fibrosis significativa y 0,77-0,86 para la cirrosis.

Una de las principales limitaciones de los índices es que varios de sus componentes no son específicos del hígado, influenciando sobre ellos otras patologías, así como las tasas de excreción y aclaramiento. Por ejemplo, los niveles de ac. hialurónico aumentan en el estado post-pandrial, en personas de edad avanzada o en personas afectas de artritis reumatoide. En otros casos, medidas indirectas como el recuento plaquetar o el nivel de AST puede variar entre los diferentes laboratorios.

*** FibroTest® (Fibrosure®, LabCorp, Burlington)** ¹⁶⁸

Índice mixto, que combina concentraciones séricas de macroglobulina α_2 , haptoglobina, GGT, bilirrubina total, edad, género y apolipoproteína A1. Es el índice más estudiado y validado, tanto para VHC como VHB, hepatitis crónica alcohólica, NAFLD y HIV/HCV ^{151, 178}. Su valor queda alterado por síndromes inflamatorios, hemolisis y el síndrome de Gilbert. Identifica aprox. el 70% de los pacientes con fibrosis moderada-severa (punto de corte de 0.49), con S 70% y E 80%. Para el diagnóstico de cirrosis (punto de corte de 0.75), con S 91% y E 75%, con un AUROC media de 0.85.

En resumen, el FibroTest® es un índice con moderada precisión para el diagnóstico de fibrosis moderada-severa, y un índice preciso para el diagnóstico de cirrosis y con alta exactitud para descartar el diagnóstico de cirrosis.

Se ha estimado que el coste es de aprox. 30 € por los test de laboratorio, más 50 € por el uso de la fórmula patentada ¹⁸⁸.

En un estudio con 64 pacientes con hepatitis C no tratada y tras 5 años de su primera evaluación de fibrosis tanto con biopsia hepática como con FibroTest® en el mismo día, los dos métodos presentan un valor pronóstico similar en términos de morbi-mortalidad ¹⁸⁹.

*** HepatoScore® (Path West, University of Western Australia)** ¹⁷⁰

Índice mixto, que combina concentraciones séricas de bilirrubina, GGT, ácido hialurónico, macroglobulina α_2 , edad y sexo. Su valor también queda alterado por síndromes inflamatorios, hemolisis y el síndrome de Gilbert. Al menos 6 estudios comparan el HepatoScore® con la biopsia hepática (un total de 6.373 pacientes con hepatitis C crónica) ¹⁹⁰. El punto de corte para fibrosis significativa es de 0.5, con sensibilidad y especificidad similar al FibroTest®. Para el diagnóstico de cirrosis hepática, el punto de corte es de 0,8 con una S de 75% y E de 85%. En un estudio que compara el HepatoScore® y FibroTest® muestra que los dos índices tienen una precisión diagnóstica similar ¹⁹¹. Se estima que el coste de aplicar el HepatoScore® es de aprox. 51€ (test de laboratorio). ¹⁸⁸

*** Fibrometer® (BioLiveScale, Angers, France)** ¹⁶⁹

Índice mixto, que combina concentraciones séricas de ácido hialurónico, tiempo de protrombina, plaquetas, AST, macroglobulina α_2 , urea y edad, la

fórmula está ajustada según la causa de la enfermedad hepática. Su valor puede estar alterado por síndromes inflamatorios, colostasis, déficit de vitamina K o uso de terapias anti-vitamina K, fallo renal y deshidratación. Al menos 5 estudios (un total de 2.800 pacientes con hepatitis crónica C) comparan el Fibrometer® con la biopsia hepática¹⁸⁸. Para la detección de fibrosis moderada y severa (punto de corte de 0,62) con S y E similar al FibroTest®. Para el diagnóstico de cirrosis (punto de corte de 0.98) con S del 36% pero con una E del 98%. Se estima que su coste es de aprox. del 62€ por los test de laboratorio, y 50€ más por el uso del índice (patentado).¹⁸⁸

* **Fibroindex**.¹⁶³

Marcador indirecto, que combina concentraciones de plaquetas, AST y γ -globulina. El estudio se hizo con 360 pacientes con VHC, con AUROC de 0.83 (punto de corte de $\leq 1.25 \geq 2.25$) para fibrosis significativa, con S 30-40% y E 97-97.

* **FIB-4**.¹⁹²

Marcador serológico indirecto que combina el recuento de plaquetas, AST y γ -globulina. El estudio se hizo con un total de 847 pacientes con VHC en estadio F3-F4. Para cirrosis, la AUROC fue de 0.85 (punto de corte $< 1.45 > 3.25$) con S 38%-74% y E 81%-98%.

* **King's Score**.¹⁹³

Basado en un estudio prospectivo sobre 923 pacientes con VHC a los que se les realizaba biopsia hepática". El AUROC para predecir fibrosis significativa y cirrosis (Ishak F3-F6) fue de 0.94 y 0.89, respectivamente, en el grupo de validación.

Entre los índices indirectos más utilizados se encuentran el test Forns, el APRI y el HALT-C (Lok Index).

* **Test Forns** ¹⁵⁶

Su objetivo fue elaborar un modelo simple basado en datos analíticos de rutina para predecir fibrosis significativa (METAVIR F2-F4) vs. fibrosis no significativa (METAVIR F0-F1) en pacientes con hepatitis crónica por el VHC.

Se incluyeron un total de 476 pacientes a los cuales se les realizó biopsia hepática, que fueron divididos en dos grupos: “grupo de estimación” (N=351 pacientes), y el “grupo de validación” (N=125 pacientes). Un 50% presentaban F0, el 24% eran F1 (total de 74%) y el resto, un 25% presentaban fibrosis significativa (10% en F2, 15% en F3 y F4). Cinco variables fueron identificadas como predictores independientes de fibrosis; GGT, recuento plaquetar, edad, colesterol y tiempo de protrombina, excluyendo finalmente este dato que no estaba expresado como INR. Sobre ellas, se construyó un índice según la siguiente fórmula:

$$7.811 - 3.131 \cdot \ln(\text{platelet count}) + 0.781 \cdot \ln(\text{GGT}) \\ + 3.467 \cdot \ln(\text{age}) - 0.014 \cdot (\text{cholesterol})$$

Se realizaron curvas ROC en el grupo de estimación y en el de validación (**Fig. 14**), eligiéndose dos umbrales para identificar la ausencia (< 4.2) y la presencia (> 6.9) de fibrosis significativa, con un valor predictivo negativo (VPN) de 96% en el grupo de estimación (punto de corte < 4.2) y un valor predictivo positivo (VPP) de 79% (para un punto de corte >6.9). En el grupo de validación, el VPN era de 96% (para un punto de corte < 4.2) y un VPP de 66% (para un punto de corte de >6.9). Por tanto, la exactitud diagnóstica del modelo disminuyó significativamente en el grupo de validación.

La ventaja de este modelo es que con un índice relativamente sencillo de realizar, alrededor de la mitad de los pacientes con F0-F1 son diagnosticados con un alto valor predictivo (índice < 4.2 identifica a estos pacientes con un 96% de certeza). Las limitaciones son que precisa de una fórmula difícil de calcular a “la cabecera del enfermo” y que no presenta suficiente exactitud diagnóstica para detectar fibrosis significativa, con un VPP del 66% en el grupo

de validación. Finalmente, los autores remarcan que sus datos deberían ser validados por otros centros.

El índice Forns no da información sobre cirrosis, sólo lo hace sobre la fibrosis significativa. Aproximadamente la mitad de los casos no pueden ser clasificados y la exactitud diagnóstica es muy variable según los estudios (entre 50-85%)^{194, 156}. También se ha sugerido que el índice Forns podría ser menos preciso para los pacientes con VHC genotipo 3, ya que se asocia con niveles muy bajos de colesterol¹⁹⁵, aunque otros estudios no lo confirman¹⁹⁴.

Cutoff Score	Accuracy					Population Involved	Interpretation
	S	Sp	PPV	NPV	LR		
<4.2	0.94	0.51	0.4	0.96	1.9	39%	Absence of fibrosis (96% certainty)
>6.9	0.3	0.95	0.66	0.8	6	12%	Presence of fibrosis (66% certainty)

Fig. 14: Accuracy del índice para el grupo de validación (n = 125), con una prevalencia de fibrosis significativa del 26% (Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002;36(4 Pt 1):986-992)

Adafal N.¹⁷⁴, planteó varias consideraciones al estudio de Forns. En primer lugar, la población de pacientes estaba muy seleccionada, excluyendo pacientes de más de 65 años, aquellos con consumo regular de alcohol, pacientes obesos y coinfectados por el VHB o VIH. Además, sólo el 51% de los pacientes pudieron ser clasificados, mientras que el resto de los pacientes caen en la zona de “inclasificados” (puntuación entre 4.2 y 6.9). Por lo tanto, Adafal concluye que la aplicabilidad generalizada del sistema Forns puede ser limitada.

* Índice APRI¹⁶⁴

El objetivo del estudio de Wai et al fue elaborar un modelo simple basado en datos analíticos de rutina para predecir la fibrosis significativa (índice Ishak \geq 3) y cirrosis (índice Ishak de 5 ó 6) en pacientes con hepatitis crónica por el VHC.

Se reclutaron de forma retrospectiva una cohorte de 279 pacientes, los cuales fueron divididos en dos grupos; un grupo de elaboración y un grupo de validación. Se recogieron datos virológicos y analíticos. Los factores predictores de fibrosis significativa y cirrosis fueron el valor de AST y el recuento de plaquetas. La fórmula del índice APRI es la siguiente (**Fig. 15**).

$$\text{APRI} = \frac{\text{AST level (/ULN)}}{\text{Platelet counts (10}^9\text{/L)}} \times 100$$

Fig. 15: Fórmula del índice APRI. (Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(2):518-526)

El AUROC fue 0.83 (95% IC 0.78-0.88) y 0.90 (95% IC, 0.86-0.94) para predecir fibrosis significativa y cirrosis, respectivamente.

El índice APRI es un índice fácil de calcular a través de una fórmula sencilla usando valores analíticos de rutina con una exactitud diagnóstica del 51% para fibrosis significativa y del 81% para cirrosis. Los puntos de corte para fibrosis significativa: ausencia ≤ 0.5 y presencia ≥ 1.5 ; y cirrosis, ausencia ≤ 1 y presencia >2 .

Hasta la fecha, el test APRI, junto al FibroTest, han sido los marcadores más estudiados. En un meta-análisis¹⁹⁶, que reunió a 4266 pacientes con VHC de 22 estudios que aplicaron el índice APRI, el AUROC para el diagnóstico de fibrosis significativa y cirrosis fue de 0,76 (95%IC: 0.74 a 0,79) y 0,82 (95%IC: 0,79 a 0,86), respectivamente.

* **Índice HALT-C o Lok Index**¹⁶⁵

El estudio *Hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment against Cirrhosis* (HALT-C) es un trabajo prospectivo, aleatorizado, controlado y realizado con el objetivo de determinar si el tratamiento con interferón pegilado puede reducir el riesgo de progresión a la cirrosis, enfermedad hepática descompensada y carcinoma hepatocelular en pacientes con hepatitis crónica por VHC que presentan fibrosis o cirrosis avanzada.

Ciertas características de este estudio, como la cohorte utilizada (un total de 1141 pacientes), la revisión de la histología hepática por un comité de patólogos expertos y el alto porcentaje de pacientes con cirrosis, sirvió para desarrollar un modelo que permitió distinguir entre la fibrosis significativa y la cirrosis. Los objetivos del estudio fueron identificar las características demográficas, clínicas, de laboratorio y virológicas asociadas con el diagnóstico histológico de cirrosis, y desarrollar un modelo predictivo de cirrosis basado en exámenes de laboratorio objetivos y disponibles en la práctica clínica rutinaria.

Para ello se reclutaron de forma prospectiva una cohorte de 1141 pacientes adultos, de los cuáles 429 (38%) presentaban cirrosis. Los criterios de inclusión era tener RNA-VHC positivo, el fracaso terapéutico del tratamiento con interferón estándar con o sin ribavirina y la existencia de fibrosis o cirrosis en una biopsia hepática realizada dentro de los 12 meses de comenzado el estudio. La biopsia hepática valorada según el índice de Ishak, donde los estadios 5 (cirrosis incompleta) y 6 (cirrosis definitiva) de fibrosis se incluyeron en el grupo de pacientes con cirrosis, mientras que los estadios 3 (fibrosis con puentes ocasionales) y 4 (fibrosis marcada con puentes) formaron el grupo de pacientes con fibrosis significativa.

El modelo con mejor curva ROC y más simple fue el constituido por los valores de plaquetas, INR y AST/ALT ratio. A partir de este modelo se sugirió una fórmula matemática para la detección de cirrosis sin recurrir a la biopsia hepática en un 58% de los pacientes, con AUC de 0.91 (95% IC, 0.84-0.97).

Un umbral < 0.2 excluye cirrosis con VPN de 86%. Un cutoff > 0.5 identifica cirrosis con VPP de 75%, y con S 40-98% y E 53-99%. El 48.5% de los pacientes se situaban entre ambos cutoff, y por tanto, no pudieron ser correctamente clasificados.

Por tanto, las limitaciones del índice es que requieren de una complicada fórmula, para el diagnóstico de cirrosis con un alto porcentaje de pacientes que pueden quedar en los valores intermedios entre 0.2 y 0.5 y por tanto, imposibles de clasificar. Finalmente, los autores remarcan que sus datos deberían ser validados por otros centros.

Paralelamente, en nuestra Unidad, elaboramos un índice no invasivo con el objetivo de valorar la presencia de cirrosis hepática en un grupo de pacientes (N= 332) sin necesidad de realizar biopsia hepática, el **NIHCED-Sabadell's non Invasive Hepatitis C related-Cirrhosis early Detection Score**.

*** NIHCED- Sabadell's non Invasive, Hepatitis C related-Cirrhosis Early Detection Score-**^{197, 198}

La elaboración del índice se realizó a partir de una población de 332 pacientes con un grupo de elaboración y uno de validación. A diferencia de otros índices no invasivo, el elaborado por nuestro grupo, además de evaluar variables demográficas y analíticas, también valoró parámetros ecográficos. Un índice ≥ 22 tuvo una sensibilidad del 86%, una especificidad del 90%, un VPP del 86%, un VPN del 96.4% y una exactitud diagnóstica del 90%. El índice se muestra en la siguiente tabla.

Índice predictivo de hepatitis crónica por virus C (NIHCED)

Edad ≥ 60	13 puntos
Tiempo de protrombina ≥ 1.1	10 pts
Plaquetas ≤ 100.000	15 pts
GOT/GPT ≥ 1	10 pts
Hipertrofia del lóbulo caudado	6 pts
Atrofia del lóbulo hepático derecho	15 pts
Esplenomegalia $>13\text{cm}$	7 pts

El índice predictivo elaborado y validado por nuestro grupo podría ser una herramienta útil para el seguimiento ambulatorio de los pacientes con hepatitis crónica por virus C, obviando la realización de biopsias hepáticas periódicas recomendadas en la actualidad por las sociedades científicas.

En general, la incapacidad para clasificar un gran número de pacientes se explica porque ninguno de los índices realmente mide la fibrosis, pero sí reflejan una alteración en la funcionalidad del hígado, lo que lleva asociado la progresión de la enfermedad. En general, los marcadores tienen una capacidad similar para diferenciar F0/F1 vs F3/F4.

B) Algoritmos combinados con marcadores serológicos

Para aumentar la precisión diagnóstica, se han planteado nuevos enfoques usando algoritmos graduales, combinando de forma secuencial diferentes índices, aunque ello también aumenta su complejidad y limita su aplicación^{184, 191, 194, 199, 200, 201}.

Por ejemplo, el **algoritmo SAFE (sequential algorithm for fibrosis evaluation)** combina de forma secuencial el test APRI y el Fibrotest®, identificando con una fiabilidad del 94% al 50% de los pacientes con fibrosis significativa (F2-4) usando el índice APRI como test de cribaje seguido del uso del FibroTest® en los casos en los que el APRI no puede clasificarlos. La biopsia hepática se realizó en los casos en los que el paciente no tenía fibrosis significativa (F0-F1). La precisión diagnóstica fue del 95%, evitando la biopsia en el 60-70% de los casos¹⁹⁴. Estos datos fueron validados en un estudio multicéntrico con más de 2.000 pacientes con VHC^{202, 203}. **Fig. 15.**

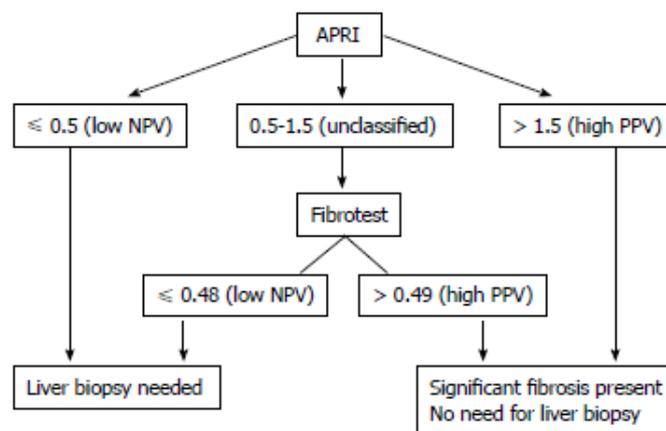


Fig. 15: Algoritmo SAFE-biopsia para fibrosis significativa (F≥2) (Boursier J, Vergniol J, Sawadogo A, et al. The combination of a blood test and Fibroscan improves the non-invasive diagnosis of liver fibrosis. *Liver Int.* 2009;29(10):1507-1515)

Otros estudios han combinado FibroTest® con el índice Forns (**Fibropaca**)²⁰⁰; y el FibroTest® con el Hepatoscore®¹⁹¹.

Castera et al demostraron que la combinación del FibroScan® con el Fibrotest® (**algoritmo Bordeaux**) tiene un excelente precisión diagnóstica, tanto para detectar fibrosis significativa (AUROC 0.88), como cirrosis (AUROC 0.95)²⁰⁴.

Más tarde, se compararon ambas combinaciones, SAFE y el algoritmo de Castera (algoritmo Bourdeaux), revelando que la capacidad para detectar cirrosis era similar, aunque en el caso del algoritmo de Castera era posible evitarse mayor número de biopsias (hasta el 75%)²⁰⁵.

La combinación de marcadores séricos (FibroTest®, Fibrometer® y Hepatoscore®) con técnicas de imagen (FibroScan®) representa un paso más en la evaluación de la fibrosis relacionada con el VHC, recomendado por el French Health Authorities como primera línea de evaluación de fibrosis, aunque su aplicación requiere algoritmos complejos^{205, 206, 207}. Su combinación tiene como ventajas principales, que el FibroScan® nos informa más directamente de la estructura hepática y que no hay interferencia con procesos intercurrentes, como ocurre con los biomarcadores (síndrome de Gilbert, hemolisis, artritis reumatoide, sepsis...).

En 2008, Bourliere M. et al¹⁹¹ publicó un estudio sobre una cohorte de 467 pacientes con VHC (59% ♂), cuyo principal objetivo era validar el Hepatoscore® y el FibroTest® como alternativa a la biopsia y como objetivo secundario fue combinar el FibroTest®, Hepatoscore®, APRI y el índice Forns para mejorar la precisión diagnóstica de los marcadores para predecir fibrosis. Los resultados mostraron que el algoritmo que combina APRI con Hepatoscore® tiene la mayor tasa a la hora de evitar biopsias (45%) con alta precisión diagnóstica (91%).

Se combinaron los marcadores en cinco algoritmos secuenciales para diagnosticar \geq F2, minimizar el número de biopsias hepáticas y el sobre-diagnóstico. Se usó un grupo de estimación (N = 293) y un grupo de validación (N = 179).

El algoritmo que mayor tasa de biopsias evitó (45%), fue el que combinaba APRI y HepaScore®, con una precisión diagnóstica del 91%. **(Fig. 16)**

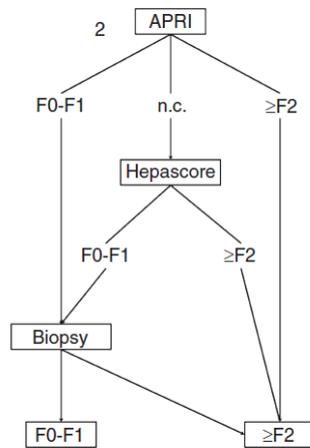


Fig. 16: Algoritmo diagnóstico con mayor tasa de biopsias evitables. (Bourliere M, Penaranda G, Ouzan D, et al. *Optimized stepwise combination algorithms of non-invasive liver fibrosis scores including Hepascore in hepatitis C virus patients. Aliment Pharmacol Ther.* 2008;28(4):458-467)

Crisan D. et al ²⁰⁸ evaluó diferentes índices (APRI, Forns, FIB-4, HepatoScore®, FibroTest® y Fibrometer®) y el FibroScan® comparándola con la biopsia hepática (METAVIR) en 446 pacientes, con el objetivo de determinar la precisión diagnóstica de cada uno de ellos, así cuál de las diferentes combinaciones es la que tiene mayor precisión diagnóstica. Las AUROC más altas fueron para el Fibrometer (0.797), FibroTest® (0.778), FibroScan® (0.751), APRI (0.727) y FIB-4 (0.714). El algoritmo APRI con Fibrometer® aumenta la precisión diagnóstica de 69.07 a 82.27%, en comparación del uso de APRI solo vs APRI más Fibrometer®. El algoritmo FIB-4 con Fibrometer®, aumenta la precisión diagnóstica de 57.74 a 81.33%. **(Fig. 17).**

	Precisión diagnóstica (%)
APRI	69.07
APRI+ Fibrometer®	82.27
APRI FibroScan®	80.70
FIB-4	57.74
FIB-4 Fibrometer®	81.33
FIB-4 FibroScan®	81.33

Fig. 17: Tabla comparativa de la precisión diagnóstica de los diferentes algoritmos.

Otro de los algoritmos más usados es el algoritmo Leroy ¹⁸⁴, donde se combina el Fibrotest® y APRI (Fig. 18). En el estudio no se pudo confirmar cual era el mejor marcador no invasivo, pero encontraron que una combinación de dos índices presentaba un mejor rendimiento que el uso de uno solo; por ejemplo, la combinación del Fibrotest® y APRI ¹⁹⁴ descartan fibrosis significativa (F2, F3, F4) con un VPN del 94%. Las limitaciones de estos algoritmos es que sólo se han aplicado a los pacientes con hepatitis C ya conocida, y además, las mejores combinaciones podrían seleccionar entre el 25-50% de los pacientes.

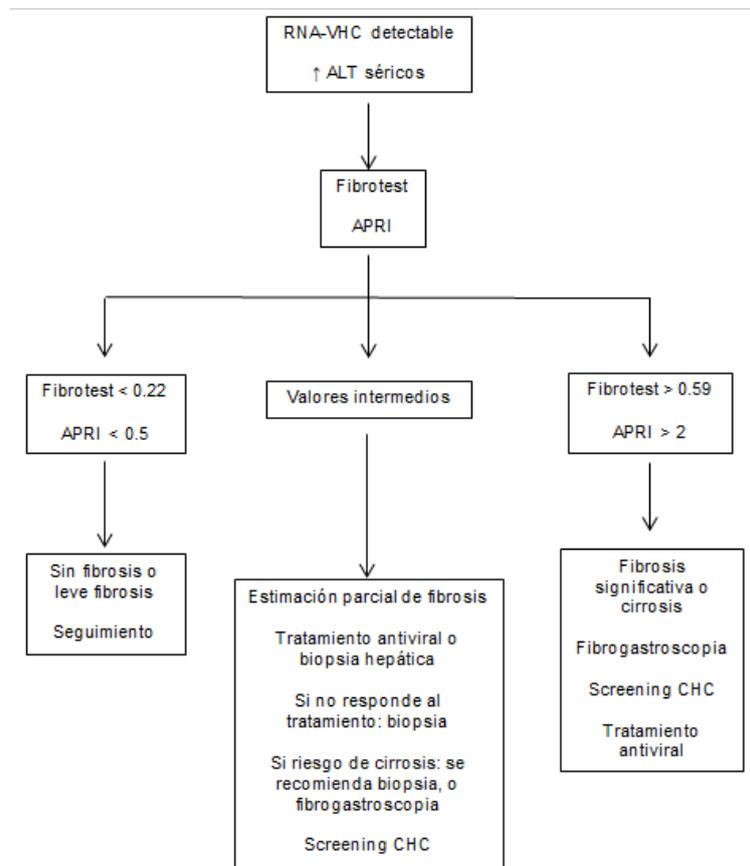


Fig. 18: Algoritmo de Leroy et al para el diagnóstico de fibrosis significativa en pacientes VHC con transaminasas elevadas

C) Marcadores no invasivos vs biopsia hepática

El propósito de los marcadores séricos es el de maximizar el algoritmo para coincidir con las etapas histológicas según lo evaluado mediante biopsia hepática ¹⁵⁰. Aunque los marcadores no invasivos (también el FibroScan®) nos da información sobre el estado de fibrosis hepática y una estimación del pronóstico de la hepatitis crónica, perdemos información que sí que nos da la biopsia, como el grado de inflamación ²⁰⁹ y de esteatosis ^{210 211} o los depósitos de hierro ²¹².

La expresión típica de la eficacia de una prueba se basa en el área bajo la curva característica (AUROC), que traza la sensibilidad frente a 1-especificidad. El AUROC representa la probabilidad de que una prueba clasifique correctamente dos pacientes elegidos al azar, uno con una biopsia de hígado considerado 'normal' y el otro 'enfermo'. La precisión de diagnóstico no invasivo de dos índices también es comparado usando sus respectivas AUROC y una prueba estadística apropiada. El uso de las AUROC plantea dos cuestiones metodológicas. En primer lugar, su uso se basa en la suposición de que el gold estándar (la biopsia) es una variable dicotómica, mientras que la fibrosis en realidad se trata de una variable continua (usa una escala ordinal); esta diferencia implica que los estadios de fibrosis de la muestra tiene que ser catalogados en dos grupos: fibrosis no significativa vs fibrosis significativa.

Por tanto, una limitación importante de cualquiera de estos sustitutos séricos de la biopsia se encuentra en su concepción y/o de su validación por medio de un enfoque dicotómico, esto es, fibrosis significativa vs fibrosis no significativa, definición variable según el estudio y el sistema de estadificación histológica usado, por ejemplo el sistema METAVIR comprende 5 estadios de fibrosis, mientras que el Knodell son 4 y el sistema Isahk son 7.

Este nivel de complejidad a la hora de catalogar la fibrosis se ha demostrado importante en el seguimiento de la evolución de la enfermedad, en la definición de la tasa de progresión a cirrosis y a la hora de decidir el inicio de un tratamiento antiviral. Y el uso de este enfoque revela una pérdida significativa de información.

Sin embargo, en la mayoría de los trabajos estas limitaciones han sido dejadas al margen al considerar que las diferentes etapas histológicas son variables lineales y por tanto, extrapolar valores intermedios para cada una de las etapas. Sin embargo, esta es una suposición errónea ya que los índices están diseñados para variables no continuas. Así, cuando consideramos la extensión de la fibrosis (medida por técnicas de imagen), se observa la ausencia de linealidad entre la extensión de la fibrosis y los grados histológicos ²¹³.

Esto explicaría por qué, cuando se consideran sólo las etapas adyacentes (F1 vs F2 o F2 vs F3), los valores AUROC son inaceptablemente bajos, lo que lleva a considerar los índices como herramientas inadecuadas para el seguimiento individual de la fibrosis hepática ¹⁵¹.

El AUROC también puede variar en función de la longitud de la biopsia y la fragmentación, así como la prevalencia de cada una de los estadios de fibrosis en la población estudiada (es decir, el sesgo de "espectro"). Es decir, si los estadios extremos de fibrosis (F0 y F4) están sobrerrepresentados en una población, la sensibilidad y especificidad será más alta que en una población que incluye sólo a pacientes con estadios adyacentes de fibrosis (F1 y F2) ¹⁵⁰.

Ya que la biopsia hepática se utiliza como marcador gold standard en la confección de un marcador sérico, un índice sérico perfecto podría teóricamente alcanzar un AUROC de 1,0 y un valor inferior del AUROC estaría relacionado con las limitaciones propias del marcador sérico, y no a la limitación de la biopsia para evaluar la fibrosis.

Pero debido a que la biopsia hepática es un patrón oro imperfecto, una prueba perfecta nunca alcanzará el valor máximo ¹⁵⁰. Teniendo en cuenta un rango de precisión de la biopsia y un rango de prevalencia de la enfermedad significativa (que influyen en la AUROC), Mehta et al. ¹³⁶ demostraron que en el escenario más favorable, una AUROC > 0,90 no se puede lograr aunque sea por un marcador perfecto.

Se han propuesto varias maneras de prevenir este sesgo, como el ajuste de la AUROC por el método DANA (normalización de acuerdo a la prevalencia de los estadios de fibrosis que definen fibrosis avanzada (F2-F3-F4) y no fibrosis

avanzada (F0-F1) ²¹⁴ o la medida Obuchowski ²¹⁵ (diseñado para un “gold standard” con medidas ordinales), que es una versión multinomial de las AUC, basada en un promedio ponderado, en este caso, de las 5 variables de fibrosis del índice METAVIR.

En el estudio de Poynard ²¹⁴, la medida Obuchowski se puede interpretar como la probabilidad de que el índice no invasivo será correctamente clasificado entre muestras de dos pacientes randomizados con diferentes estadios de fibrosis de acuerdo con el esquema de ponderación. Sobre sus datos, Poynard et al concluyen que la medida Obuchowski tiene varias ventajas sobre el uso de AUC:

1. Se elimina el sesgo relacionado con la distribución de los estadios de fibrosis y corrige el aumento del error tipo I.
2. Mediante el uso de medida Obuchowski con el mismo esquema de ponderación, los resultados de diferentes estudios podrían ser comparados fácilmente o combinarse en un meta- análisis.
3. Se puede utilizar para estimar un ajuste sobre las diferentes etapas de fibrosis.
4. Los análisis de las AUROC requieren los resultados de la biopsia hepática para ser agregados en dos resultados. Numerosos estudios han mostrado diferentes AUC para el mismo índice no invasivo, debido a las diferentes formas de agrupación de los estadios de fibrosis.
5. El uso de un esquema de ponderación y una función de penalización aumenta la relevancia clínica de la medida Obuchowski.

Varios estudios comparan la biopsia hepática con diferentes marcadores no invasivos. En el estudio de Lackner ²¹⁶, compara la biopsia hepática (Ishak) con el índice AST/ALT (ratio AAR), índice discriminante de cirrosis (CDS), índice edad-plaquetas (AP), Pohl score, APRI y recuento plaquetar, para predicción de fibrosis significativa (F3-F6) y para predicción de cirrosis (F5-F6), sobre 211 pacientes con VHC genotipo 1. El mejor índice fue el APRI, con AUROC de 0.80 (F3-F6) y 0.90 (F5-F6). Finalmente se concluyó que el diagnóstico de fibrosis significativa se puede predecir en un 25% y el de cirrosis en un 80%.

En el estudio de Sebastiani ²¹⁷ donde se estudian 2411 pacientes con diferentes etiologías de daño hepático (VHC, VHB, NASH y co-infección

VHC/VIH), comparando la biopsia hepática vs APRI, índice Forns, índice Lok, APRI, FIB-4, recuento plaquetar y Fibrotest, para fibrosis significativa ($F \geq 2$) y cirrosis (F4) tanto con el estudio del AUROC como el AUROC ajustado por DANA. El índice APRI muestra el mejor rendimiento en los pacientes VHC con AUROC ajustada de 0.77 (fibrosis significativa) y 0.83 (cirrosis), seguido del Fibrotest. También se comprobó que los pacientes con ALT normal presentan un rendimiento inferior de los marcadores (con AUROC ajustada para fibrosis significativa, mejor para APRI y Fibrotest, con 0.70), por lo que la biopsia no es reemplazable.

Además, la etiología del daño hepático, influye en el rendimiento de los marcadores; por ejemplo, con respecto al índice APRI para diagnóstico de cirrosis, la sensibilidad, especificidad y AUROC ajustada es mayor en pacientes con VHC, seguido de co-infección VHC/VIH, VHB y NASH.

Excepto en el estudio de 2011 de Boursier et al.²¹⁸ realizado sobre 2.068 pacientes y con los objetivos de evaluar la exactitud diagnóstica de una clasificación de fibrosis detallada de dos test séricos (Fibrometer y Fibrotest), del FibroScan® y la biopsia hepática, hasta el momento, ninguno de los métodos no invasivos pueden distinguir claramente entre los estadios intermedios de la fibrosis²¹⁹, y en muy pocos de los estudios se informa de las características de la biopsia ni el tamaño de la aguja.

En la siguiente tabla (**Fig. 19**), se puede ver el resumen de las ventajas y desventajas de la biopsia vs de los métodos no invasivos ¹⁷⁸.

	Biopsia hepática	Test no invasivos	
Ventajas	Medida directa de la fibrosis	No invasivo	
	Sistema de estadiaje bien establecido	Fácil de repetir	
	Valoración de las alteraciones de la arquitectura hepática	Potencialmente puede reflejar el estatus del hígado entero	
	Evaluación de lesiones asociadas	Distingue rangos extremos de fibrosis	
			No riesgo para el paciente
			No contraindicaciones
Alto rendimiento para detectar cirrosis (FibroScan®)			
		La combinación aumenta la precisión diagnóstica	
Desventajas	Invasivo y doloroso.	Medida indirecta	
	Complicaciones severas (0.03%)	Fallo en el 5% de los casos (FibroScan®)	
	Contraindicaciones (ascitis, coagulopatía...)	Disponibilidad limitada (FibroScan®)	
	Difícil de repetir		
	Variabilidad de la muestra		
	Infraestadiaje de fibrosis en 20%		

Fig. 19: Ventajas y desventajas de la biopsia vs test no invasivos.

D) Comparación entre marcadores no invasivos.

Existen múltiples estudios que comparan entre sí diferentes marcadores no invasivos ^{190, 194, 216, 220, 221}. En la comparación de la precisión diagnóstica de los marcadores no invasivos (indirectos, directos, FibroScan® y combinaciones (p.e., FibroScan® + Fibrotest®), todos los test muestran un mejor rendimiento para el diagnóstico de cirrosis (AUROC 0.90-0.95) que para fibrosis significativa (AUROC alrededor de 0.80), sin cambios significativos entre marcadores sencillos o más complejos. Sin embargo, el FibroScan® presenta un mejor rendimiento en el diagnóstico de cirrosis (AUROC alrededor de 0.97) y útil para el diagnóstico de hipertensión portal ²²². En general, la comparación entre marcadores, es bastante complicada. Muchos de ellos no han sido validados de forma externa; o bien, existen variaciones con respecto al test de referencia (diferentes índices

patológicos de la biopsia, tamaños de biopsia no adecuados, variación interobservador...).

Bourliere et al ²⁰⁰, sobre 235 pacientes, comparó diferentes índices, siendo los marcadores Fibrotest®, APRI y Forns los que presentan el mejor rendimiento diagnóstico, presentando un algoritmo simple con el uso de estos marcadores.

Fig. 20.

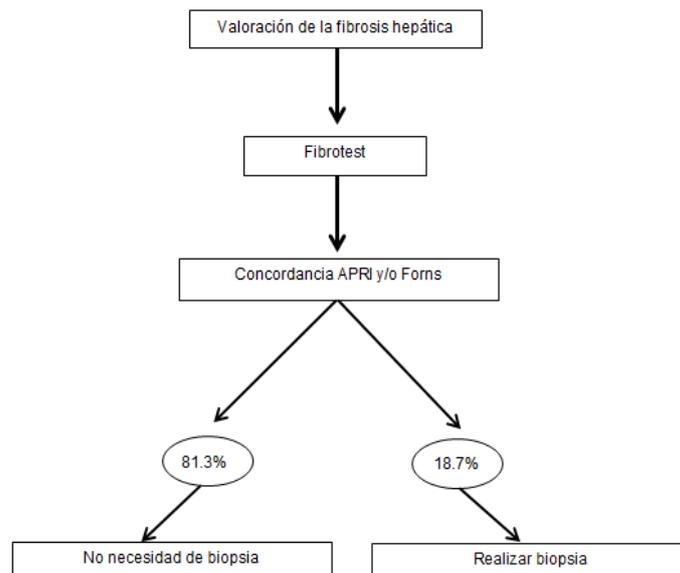


Fig. 20: Propuesta de algoritmo para pacientes con VHC. (Bourliere M, Penaranda G, Renou C, et al. Validation and comparison of indexes for fibrosis and cirrhosis prediction in chronic hepatitis C patients: proposal for a pragmatic approach classification without liver biopsies. *J Viral Hepat.* 2006; 13(10):659-670.)

Sebastiani et al ¹⁹⁹, en 2012 publicó un estudio donde se comparan 3 algoritmos diagnósticos que usan marcadores no invasivos para el diagnóstico de fibrosis significativa (F \geq 2 de METAVIR) y cirrosis (F4 de METAVIR) sobre un total de 1013 pacientes con VHC (genotipos del 1 al 6, y un 11.2% de pacientes con F4 según la biopsia hepática). **Fig. 21.**

Los algoritmos estudiados fueron el SAFE biopsy (APRI más Fibrotest®), Fibropaca (Fibrotest® más APRI y/o Forns) y algoritmo Leroy (APRI más Fibrotest®), éste sólo para diagnóstico de fibrosis significativa. Se comparó con las biopsias hepáticas de los pacientes (METAVIR), con tamaño medio mayor de

2 cm y contenido de al menos de 11 tractos portales, tal y como se recomienda

223

	SAFE biopsy	Fibropaca	Leroy
Accuracy (%)	90.3	87.6	93.5
Sensibilidad (%)	100	85.5	89.6
Especificidad (%)	78.2	89.9	97.8
VPP (%)	83.7	90.5	89.6
VPN (%)	100	84.7	97.8
LR +	4.59	8.47	40.72
LR -	0	0.16	0.1
ObAUROC	0.9	0.88	0.94
AdjAUROC (DANA)	0.96	0.94	1
Biopsias ahorradas	43.8	51.7	29.2
Dinero ahorrado (€)	267 000	265 000	105 900

Fig. 21: Resultados de los tres algoritmos para fibrosis significativa. (Sebastiani G, Halfon P, Castera L, et al. Comparison of three algorithms of non-invasive markers of fibrosis in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35(1):92-104.)

Los autores concluyen que tanto el algoritmo SAFE como el Fibropaca tienen un rendimiento excelente. Para $F \geq 2$, Fibropaca ahorra mayor número de biopsias que el algoritmo SAFE (51.7 vs 43.8%, $p=0.0003$), pero con una precisión más baja (87.6% vs 90.3%, $p=0.05$). Para F4, la diferencia a la hora de ahorrar biopsias entre SAFE y Fibropaca no es estadísticamente significativa, con una precisión más alta para Fibropaca (91.2% vs 94%, $p=0.02$).

Usler et al ²¹⁹ comparó los resultados de nueve biomarcadores séricos no invasivos con biopsias hepáticas para predecir el estadio de fibrosis hepática, en pacientes con VHC-genotipo 1 y sin tratamiento previo ($n = 77$). Se comparó el recuento de plaquetas, la relación AST / ALT (AAR), la puntuación discriminante cirrosis (CDS), FIB4, índice APRI, índice edad/plaquetas (AP), índice de cirrosis Universidad de Göteborg (GUCI), FibroTest y ActiTest y se compararon con los hallazgos histológicos. Todos los biomarcadores séricos, excepto AAR, estaban débil o moderadamente correlacionado con los resultados de la biopsia hepática (Ishak). Las puntuaciones medias de FibroTest, FIB4 y APRI fueron significativamente diferentes entre los grupos (F0-F2) y (F3-F4) y el VPN del grupo F3-F4 fueron 95%, 85% y 85 %, respectivamente.

El estudio sugiere que los biomarcadores séricos pueden ayudar a diagnosticar la fibrosis significativa pero insuficiente para detectar fibrosis en las primeras etapas, y aunque la biopsia hepática sigue siendo el mejor estándar para el diagnóstico de la fibrosis hepática, FibroTest, FIB4 y APRI puede utilizarse para diagnosticar fibrosis significativa con > 80 % VPN.

1.6.3.- Técnicas de imagen

Las técnicas de imagen, incluyendo la ecografía clásica, la tomografía axial computarizada y la resonancia magnética nuclear, se utilizan en la práctica clínica para la detección de la enfermedad avanzada del hígado, bien directamente, mediante la detección de cambios morfológicos evidentes del hígado cirrótico, o indirectamente mediante la detección de signos de hipertensión portal. Berzigotti A et al ²²⁴, demostró que la evaluación de la superficie hepática con la ECO era una técnica muy precisa para el diagnóstico de la cirrosis.

Sin embargo, la necesidad de identificar con precisión menor grado de fibrosis hepática ha llevado al desarrollo de nuevas modalidades de imagen que tienen como objetivo evaluar la fibrosis hepática ^{225, 226, 227, 228}, pero todos estos equipos son caros, lo que es un inconveniente importante, y requiere de mucho tiempo para su aplicación en la práctica clínica para la detección de fibrosis hepática.

Las ventajas teóricas de estos métodos incluyen la capacidad de analizar prácticamente todo el hígado y el de la aplicabilidad a pacientes con obesidad o ascitis, excepto en el caso de la elastografía. Los estudios realizados han confirmado la viabilidad de estas técnicas para la evaluación cuantitativa de hepática fibrosis ^{228, 229, 230, 231, 232}. Un estudio prospectivo comparativo de 96 pacientes con enfermedad hepática crónica ²²⁷, ha sugerido que la elastografía-RM tuvo un mejor exactitud diagnóstica que el FibroScan® para el diagnóstico de fibrosis significativa (AUROC 0,99 vs 0,84; p=0,05).

1. Ecografía hepática

La ecografía doppler ha sido propuesta desde hace años para evaluar los cambios hemodinámicos de la cirrosis hepática, usando para ello varios parámetros doppler en relación con el flujo de la vena porta y la arteria hepática^{233, 234}. Sin embargo, el valor de la ecografía en el diagnóstico y la clasificación de la hipertensión portal y la disfunción hepática sigue siendo limitado. Esto se explica al menos parcialmente por la relativamente alta variabilidad intra e interobservador²³⁵.

En la práctica clínica, la ecografía se utiliza para predecir la presencia de cirrosis, mediante signos de hipertensión portal, y mediante otros signos, como el tamaño hepático (menor)²³⁶, el ratio de los lóbulos (hipertrofia lóbulo izquierdo y caudado)^{237, 238}, textura ecográfica²³⁹, bordes hepáticos y fundamentalmente para el cribaje de carcinoma hepatocelular. Sin embargo, la precisión diagnóstica global de estos signos es baja y muy dependiente del observador. De todos los signos, el más preciso es el examen de los bordes hepáticos y la presencia de nódulos de regeneración (exactitud diagnóstica del 88-92%)^{240, 241}.

Los signos descritos más útiles mediante el ECO-doppler son dilatación de la vena porta (diámetro>13)²⁴²; cambio y reducción de la velocidad del flujo de la vena porta (máx.<20 cm/seg)²⁴³; aumento del índice de congestión portal²⁴⁴; presencia de circulación colateral porto-sistémica²⁴⁵; aumento de la impedancia intraparenquimal hepática, de la arteria renal y esplénica^{233, 246, 247, 248}, y reducción de la impedancia de la arteria mesentérica²⁴⁹.

2. TC con contraste dinámico

Recientes estudios radiológicos, muestran que el uso del TC con contraste dinámico es útil para evaluar de forma no invasiva la fibrosis hepática, basándose en modificaciones de la permeabilidad microvascular^{250, 251, 252}, ya que en que en pacientes con cirrosis, la perfusión hepática está disminuida²⁵³.

3. Elastografía por resonancia magnética (ERM)

La aplicación de la elastografía por resonancia magnética utiliza un método de resonancia magnética de contraste de fase modificado para evaluar la propagación de las ondas acústicas en el hígado (excitación mecánica armónica), evaluando de esta manera la elasticidad hepática. Las ventajas incluyen el potencial para analizar todo el parénquima, así como la aplicabilidad para los pacientes con obesidad o ascitis ²⁵⁴.

En un estudio que incluyó a 96 pacientes con hepatitis crónica por VHC, el rendimiento discriminativo de MR- elastografía (ERM) fue significativamente mejor que el FibroScan® para el diagnóstico de fibrosis significativa ($F \geq 2$) con un AUROC 0,99 vs 0,84; $p=0,05$ ²²⁷. Sus limitaciones para su uso generalizado en la práctica clínica son el alto coste económico y la necesidad de emplear demasiado tiempo en realizarla,

Otra técnica es la RMN-angiografía (MR angiography), que permite observar la medida del flujo sanguíneo de la porta y de la ázigos. De hecho, la medida del flujo sanguíneo de la ázigos se ha correlacionado con la presencia de varices esofágicas mediante endoscopia, y con el riesgo de sangrado de las mismas ²⁵⁵.

4. ARFI (impulsos de fuerza de radiación acústica)

La técnica de ARFI es una nueva técnica de diagnóstico basado en ultrasonidos, que permite evaluar la fibrosis hepática, mediante la evaluación de la rigidez hepática, al evaluar la velocidad de propagación de la onda ecográfica. El ARFI se acopla al aparato de ultrasonido y permite la evaluación de la rigidez del hígado en una región de interés que implica la excitación mecánica de tejido por el uso de pulsos acústicos de corta duración (menos de 1 milisegundo), mientras se realiza una ecografía hepática convencional en tiempo real ²⁵⁶. Aunque el volumen de hígado explorado es menor que el de la elastografía (10 mm de largo x 6 mm de ancho), una ventaja con respecto a ella, es la posibilidad de elegir el área representativa de interés evitando grandes vasos y las costillas. **Fig. 22**

	AUROC	Referencia
Test de laboratorio (APRI)	0.80	Lin et al ²
	0.76	Friedrich-Rust et al ²⁵⁷
	0.84	Leroy et al ¹⁸⁵
	0.87	Boursier et al ²⁵⁸
Elastografía	0.96	Ferraioli et al ²⁵⁹
	0.90	Friedrich-Rust et al ²⁵⁷
	0.91	Friedrich-Rust et al ²⁵⁷
ARFI	0.90	Lupsor et al ²⁵⁹
	0.99	Fierbinteanu- Braticevici et al ²⁶⁰

Fig. 22: Precisión diagnóstica de los métodos no invasivos para identificar F \geq 3. (D'Onofrio M, Crosara S, De Robertis R, et al. Acoustic radiation force impulse of the liver. World J Gastroenterol. 2013;19(30):4841-4849)

La precisión diagnóstica de ARFI es comparable a la elastografía para la cirrosis ^{226, 257, 260, 261, 262} con un AUROC de 0,89 (frente a 0,80 para elastografía, $p=0,09$) de acuerdo con un estudio reciente ²⁶³ y superior para la detección de fibrosis significativa con AUROC de 0,86 vs 0,78, $p=0,024$, y fibrosis severa (F3- F4), con AUROC de 0,94 vs 0,83, $p=0,02$. Es importante destacar que no se registraron casos de mediciones inválidas en el ARFI frente a 6,5 % de los resultados poco fiables en pacientes sometidos a elastografía ($p=0,029$). Otras ventajas, es que el ARFI no está influenciado por la esteatosis hepática ²⁶⁴ y que puede ser fácilmente incorporado en un ecógrafo modificado. No obstante, son necesarios más estudios de validación, que deberían incluir las variaciones inter e intra radiólogo, antes de ser utilizado en la práctica clínica habitual.

5. Elastografía. FibroScan®

A) Definición

La elastografía transitoria (transient elastography, FibroScan®, Echosens, París, Francia) permite evaluar de forma rápida y no invasiva el grado de rigidez del parénquima hepático y es el método más extendido en los últimos años. Se basa en un mecanismo que genera vibraciones y que envía ondas de baja frecuencia (50 Mhz) y amplitud desde la pared torácica hacia el hígado que provoca una onda elástica de propagación a través de

los tejidos ²⁶⁵. La velocidad con la que la onda se propaga a través del parénquima hepático es medida a través de un transductor de ultrasonidos: a mayor rigidez, mayor velocidad.

La velocidad es la que se usa para calcular el grado de elasticidad del parénquima hepático (conocido como “stiffness”), expresado en kilopascales (kPa), y este grado de elasticidad se correlaciona con el grado de fibrosis. El FibroScan® mide la fibrosis hepática de un cilindro de aproximadamente 1 cm de diámetro por 2 cm de longitud, el cual es 100 veces mayor que las muestras obtenidas habitualmente para las biopsias hepáticas, y por tanto, es mucho más representativo de la totalidad del parénquima hepático.

El resultado se expresa en Kilopascales (Kpa), y corresponde a la media de 10 mediciones válidas, con valores desde 2.5 hasta 75 Kpa ²⁶⁶, con valores normales alrededor de 5 Kpa. Además, se trata de una técnica rápida e indolora, lo cual es muy bien aceptada por el paciente. La imagen que podemos ver es el elastograma, que es la representación de la propagación de la onda elástica en tejido hepático en función del tiempo.

En un reciente meta –análisis ²⁶⁷ de TE donde se incluyeron 40 estudios siendo la biopsia hepática el patrón de referencia, con un intervalo de tiempo entre el FibroScan® y la biopsia hepática <3 meses, concluyeron que el FibroScan® podría ser utilizado como una buena prueba de detección para la cirrosis, con 90 % de probabilidad de diagnóstico de cirrosis, pero sólo 78-85 % a la hora de diagnosticar correctamente las etapas inferiores de la fibrosis después de una medición positiva ^{267, 268, 269}. A pesar de esta reducción de la precisión para el diagnóstico de la fibrosis en etapas intermedia, el FibroScan® parece ser más preciso que los biomarcadores séricos en la predicción de la cirrosis y el más preciso para la detección precoz de la cirrosis ¹⁸⁷.

La utilidad de la elastografía como método para cuantificar el grado de fibrosis hepática ha sido demostrada en pacientes con hepatopatía crónica de diversas etiologías: infección por VHC, VHB, co-infección VIH-VHC, enolismo, esteatohepatitis no alcohólica, hemocromatosis, enfermedad hepática colestásica ^{204, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276}. Es importante destacar que la

influencia de los aumentos en los niveles de transaminasas se debe considerar al interpretar los resultados de TE ²⁷⁷. **Fig. 23**

Autor	Etiología	Nº pacientes	Estadaje de fibrosis	Grado de fibrosis (KPa)			
				F≥2		F≥4	
Nitta	VHC	165	New Inuyama	7	0.88	12.1	0.9
Sandrin	VHC	106	Metavir	7.6	0.88		0.99
Salto	VHC	75	New Inuyama	7.8 (media)		34 (media)	
Castera	VHC	183	Metavir	7.1	0.83	12.5	0.95
Ziol	VHC	327	Metavir	8.8	0.79	14.6	0.97
Coletta	VHC con ALT normal	40	Metavir	8.74			
Ledinghen	VIH/VHC	72	Metavir	4.5	0.72	11.8-14.5	0.97
Ganne-Carrie	Varias	1007	Metavir			14.6	0.95
Foucher	Varias	711	Metavir	7.2	0.8	17.6	0.96
Corpechot	CBP y CE	101	Metavir	7.3	0.92	17.3	0.96
Yoneda	Esteatosis no alcohólica	67	Brunt	6.65	0.88	17.0	0.99
Marcellin	VHB	170	Metavir e Ishak	7	0.81	10.3	0.92
Rigamonti		95	Metavir	7.9	0.85	12	0.9
Carrión	VHC-Trasplante	124	Scheuer	8.5	0.9	12.5	0.98
Coco	VHB y VHC	228	Metavir	8.3	0.93	14	0.96
Franquelli	VHB y VHC	200	Metavir	7.9	0.86	11.9	0.9

Fig. 23: Resumen de los diferentes puntos de corte para el diagnóstico de cirrosis y fibrosis significativa, en diferentes estudios y etiologías.

Las limitaciones del FibroScan® en la práctica clínica son la dificultad de su realización en pacientes obesos, con tendencia a la sobreestimación, dado el aumento de ratio de esteatosis ^{265, 131}. Recientemente, una nueva sonda XL, ha demostrado que aumenta la exactitud de diagnóstico en pacientes obesos ²⁷⁸. Otras limitaciones son los pacientes con espacios intercostales estrechos o en pacientes con ascitis, la variabilidad inter e intra observador también influyen en las medidas, el grado de esteatosis hepática y los picos de ALT (sobre todo en las reactivaciones de la hepatitis por VHB), los cuales influyen en el grado de elasticidad ²⁷⁴. La lesión hepática aguda ^{277, 278, 279}, la insuficiencia cardíaca congestiva ^{280, 281} así como una medición posprandial puede estar asociada con una sobreestimación de la rigidez del hígado. No obstante, la elastografía hepática transitoria es una técnica reproducible con únicamente un coeficiente de variabilidad del 3% no dependiente del operador ^{225, 282, 283}.

B) Puntos de corte

Se han propuestos diversos puntos de corte para intentar identificar a los pacientes con fibrosis leve, moderada y cirrosis hepática. Tres meta-análisis han intentado abordar la cuestión del rendimiento del FibroScan® y los puntos de corte más adecuados ^{268, 269, 285}. En el estudio de Friedrich-Rust, basado en 50 estudios, la media del AUROC fue de 0.84 (95% de IC, 0.82-0.86) para el diagnóstico de fibrosis significativa, con un cut-off de 7.6 Kpa; y 0.94 (95% de IC, 0.93-0.95) para el diagnóstico de cirrosis, con cut-off de 13.0 Kpa. Además, parece que el FibroScan® es un buen método para diagnosticar cirrosis (VPP 74% y VPN 96%).

Varios grupos han publicado estudios en los que se compara la biopsia hepática con los valores de FibroScan®, y de esta manera presentar los mejores cut-off para el diagnóstico de los estadios de fibrosis. En un estudio multicéntrico con 494 pacientes VHC, evaluados con FibroScan® y biopsia en la misma sesión. Se encontró correlación estadísticamente significativa entre las mediciones de stiffness y la fibrosis histológica, con AUROC para $F \geq 2$ de 0.84, $F \geq 3$ de 0.93 y $F=4$ de 0.96. El cut-off de 7.5 Kpa diferencia F0F1 vs F2F3F4 con S 67%, S de 87% y accuracy 76% ²⁸⁶.

C) FibroScan® vs biopsia hepática

Algo más de 40 estudios comparan el FibroScan® con la biopsia hepática, con un total de más de 8.000 pacientes ^{204, 269, 271, 272, 287} donde la mayoría de los pacientes tenían grados de fibrosis F2, F3 y F4 (METAVIR), y con un cut-off entre 7-8 kPa; en la mayoría de los estudios, la sensibilidad fue del 70% y especificidad del 85%. Un 15% de los pacientes sin signos de fibrosis significativa en la biopsia, pero con stiffness compatibles con fibrosis significativa se orienta en muchos casos como secundarios a falsos negativos de la biopsia.

En cuanto al diagnóstico de cirrosis, aproximadamente el 20-60% de los pacientes de los estudios anteriormente citados mediante biopsia hepática (F4 de METAVIR), con un cut-off entre 14-15 Kpa, la sensibilidad es del 80% y la especificidad es del 95%. El 5% de los pacientes sin cirrosis por biopsia

hepática pero con valores de cirrosis por FibroScan®, se considera como falsos negativos de la biopsia.

Además, existe una diferencia económica. Se calcula que el coste de la biopsia hepática es de aprox. 300-500 €, mientras que la realización de una elastografía es de 100-150 €, con un precio por aparato de aprox. 60.000 €, al que hay que añadir el derivado del mantenimiento anual de la sonda, aprox. 2.000 €/año, por lo que se son necesarias unas 200 exploraciones para amortizar la inversión inicial ^{188, 288}.

D) *FibroScan® vs marcadores serológicos. Algoritmos de decisión con FibroScan® y marcadores serológicos no invasivos*

El FibroScan® tiene algunas ventajas con respecto a los marcadores serológicos, como que no se altera por desórdenes intercurrentes, como el síndrome de Gilbert o la hemolisis. Para intentar aumentar la precisión diagnóstica, varios estudios han valorado diferentes combinaciones de FibroScan® con marcadores serológicos ^{201, 204, 289, 290}.

En un estudio de Castera et al ²⁰⁴ con 183 pacientes con VHC, donde se compara el FibroScan® con FibroTest®, APRI y la biopsia hepática, todo ello realizado el mismo día, el rendimiento diagnóstico del FibroScan® fue similar al FibroTest® y APRI. Sin embargo, la combinación de FibroScan® y FibroTest®, aumenta el rendimiento diagnóstico para fibrosis significativa ($\geq F2$) (AUROC 0.88) y cirrosis (AUROC 0.95); el beneficio de la combinación fue más evidente para el diagnóstico de $\geq F3$ y F4, pero no tanto para $\geq F2$. Usando el algoritmo propuesto (**Fig. 24**), la biopsia hepática se podría haber ahorrado en el 75% de los pacientes.

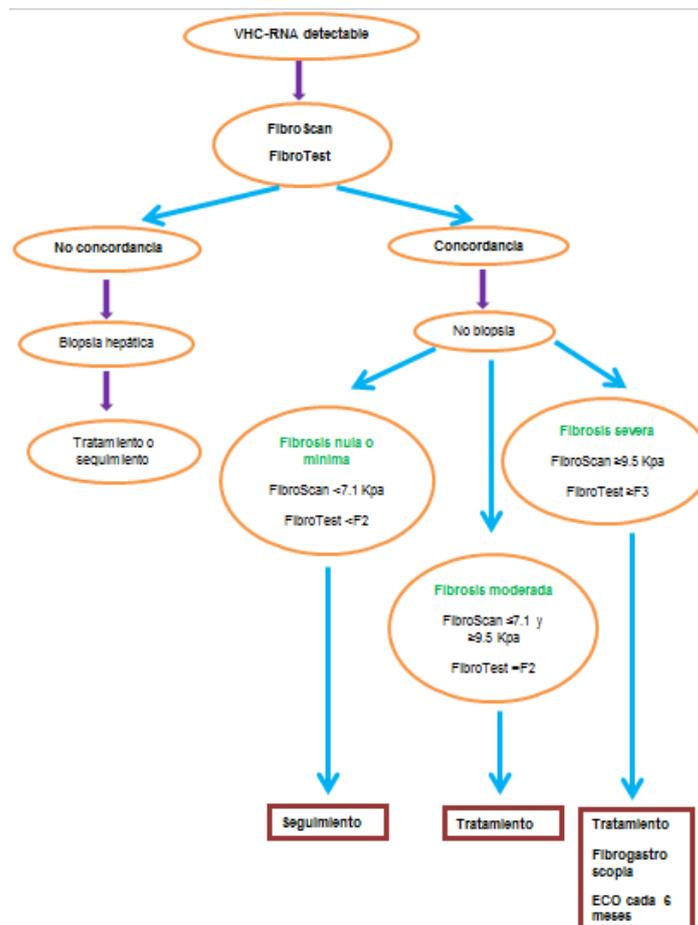


Fig. 24: Algoritmo de práctica clínica combinando FibroScan® y FibroTest® (Adaptado de Castera L, Vergniol J, Foucher J, et al. *Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. Gastroenterology. 2005;128(2):343-*

Boursier et al combinaron Fibrometer® con Fibroscan®, con precisión diagnóstica del 91.9% para clasificar el estadio de fibrosis ^{201, 291}.

En un estudio de Carlson et al ²⁹², se compara el coste-efectividad entre varios test y la biopsia hepática: Fibrosure Test, Fibrospect II, FibroScan (los resultados son sobre cada exploración, sin incluir el gasto inicial del aparato) y biopsia hepática, con los siguientes resultados ^{293, 294}. **Fig. 25.**

			Precisión diagnóstica (%)
Biopsia hepática	1569 \$	Wong et al	100%
Fibrosure Test	269 \$	Comunicación de Labcorp (Enero-2006)	86%
Fibrospect II	438 \$	Botts et al	74%
FibroScan	164 \$	CEDIT	82%

Fig. 25: Resultado del coste de biopsia, Fibrosure Test, Fibrospect II y FibroScan

1.7.- EVOLUCIÓN EN EL TIEMPO.

Una gran ventaja de los índices no invasivos es su fácil reproductibilidad y comparación en el tiempo, y de esta manera, la evaluación longitudinal de la fibrosis hepática podría ayudar en la práctica clínica a la hora de determinar la evolución de la fibrosis. Así mismo, también se podría medir mediante los métodos no invasivos, de forma sencilla, el efecto sobre la fibrosis hepática del uso de la terapia antiviral, sin coste económico elevado ni el rechazo por parte del paciente, como puede ocurrir con la biopsia.

Los datos aún son limitados y prácticamente dirigidos hacia la hepatitis por VHC, donde el uso de marcadores no invasivos parece detectar mejoras de fibrosis en los pacientes tratados con éxito ²⁹⁵. Se ha demostrado que los marcadores séricos indirectos (Forns, FibroTest, FIB-4, Fibrometer y APRI), o directos, como el FibroScan®, muestran un descenso en sus valores tras el aclaramiento viral post-tratamiento, y que esto se correlaciona con la disminución del nivel de fibrosis, lo que también se observa en los no-respondedores a tratamiento antiviral, aunque de forma menos marcada ^{296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307}.

Las mediciones longitudinales en el tiempo de los índices no invasivos pueden ser empleadas para realizar controles eficaces de la evolución de la fibrosis, siendo cada

paciente su propio control (con la medición inicial), comparando bien la mejora, el deterioro o la estabilización.

Otra área en estudio es la capacidad potencial de los métodos no invasivos para identificar a los pacientes en riesgo de progresión de la enfermedad y por lo tanto para predecir eventos clínicos. En un estudio que incluyó 165 pacientes con cirrosis, los valores de la rigidez del hígado < 19 Kpa fueron predictivos de la ausencia de varices grandes ³⁰⁸, mientras que en un estudio de seguimiento con 866 pacientes VHC positivos, la probabilidad acumulada en 3 años de desarrollar carcinoma hepatocelular fue de 0,4 % en los pacientes con valores iniciales de TE < 10 kPa frente a 38 % en aquellos con mediciones de la rigidez hepática > 25 kPa ³⁰⁹.

En un estudio multicéntrico con 600 pacientes con cirrosis, la combinación del Índice Lok y el índice de Forns fue eficiente para excluir (VPN > 90 %) la presencia de varices esofágicas clínicamente relevantes (definido como varices grandes o pequeñas várices con marcas rojas o Child C) que permite evitar el 33 % de las endoscopias del tracto gastrointestinal superior ³¹⁰.

En una cohorte de 1.457 pacientes con hepatitis crónica por VHC ³⁰⁴, el aumento de los valores de FibroScan® y Fibrotest® mostraban una buena predicción de la supervivencia a los 5 años.

Las principales limitaciones para medir la progresión de la fibrosis es que se precisa de estudios de largo tiempo de seguimiento ¹¹ dada la historia natural de la hepatitis C y de que la progresión de la fibrosis no es lineal, como ya se ha explicado previamente.

Un meta-análisis de Thein H. et al ¹³, realizó una revisión de los estudios pronósticos publicados de pacientes con VHC (+) diagnosticados por métodos serológicos y que cumplían con otros requisitos: información sobre la edad de la primera valoración de la enfermedad hepática o la edad de infección, la duración de la infección y datos histológicos de la fibrosis o bien, datos clínicos de evolución a cirrosis. Se analizaron un total de 111 estudios (N pacientes=33121), y se analizó la probabilidad anual de cambio en el estadio de fibrosis, medido por el índice METAVIR, y empleando para ello el método de estimación Markov (Markov maximum likelihood estimation, MMLE).

Las probabilidades de transición entre estadios de fibrosis (IC de 95%), en todos los estudios de forma global, fue de:

- De F0→F1 de 0.117
- De F1→F2 de 0.085
- De F2→F3 de 0.120
- De F3→F4 de 0.116

Estos valores no variaron de forma estadísticamente significativa tras ajustar por co-variantes (tipo de estudio, tipos de poblaciones, sexo, genotipo...). Sólo la duración de la infección fue el factor estadísticamente significativo asociado con la progresión de la fibrosis, en todos los grados de fibrosis. Basándose en los datos obtenidos, los autores establecieron modelos de ecuaciones de regresión para cada etapa de fibrosis, las cuales se podrían utilizar para calcular las tasas de progresión y el riesgo de cirrosis de una cohorte de pacientes o un individuo, en cada estadio de fibrosis. **Fig. 26.**

Stage	Regression Equations	Value Range of Factors in the Equation
F0 to F1	$\exp[-2.0124 - (0.07589 \times \text{duration}) + (0.3247 \times \text{design}) + (0.5063 \times \text{male proportion}) + (0.4839 \times \text{genotype 1 proportion})]$	Duration of HCV infection (years). Study design: cross-sectional/retrospective = 1; retrospective-prospective = 0.
F1 to F2	$\exp[-1.5387 - (0.06146 \times \text{duration}) + (0.8001 \times \text{excess alcohol proportion})]$	Male proportion: 0 to 1. Genotype 1 proportion: 0 to 1.
F2 to F3	$\exp[-1.6038 + (0.0172 \times \text{age at HCV}) - (0.05939 \times \text{duration}) + (0.4539 \times \text{excess alcohol proportion})]$	Age at HCV acquisition (years). Excess alcohol proportion: 0 to 1.
F3 to F4	$\exp[-2.2898 + (0.01689 \times \text{age at HCV}) - (0.03694 \times \text{duration}) + (0.5963 \times \text{IDU proportion}) + (1.1682 \times \text{blood transfusion proportion}) - (0.4652 \times \text{genotype 1 proportion})]$	Risk of HCV acquisition: IDU proportion, 0 to 1; blood transfusion proportion, 0 to 1.

Fig. 26: Estimación del riesgo de cirrosis en pacientes con infección por VHC. (Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology*. 2008;48(2):418-431.)

Abreviaciones: exp, exponential function; HCV, hepatitis C virus; IDU, adictos a drogas por vía parenteral

Los marcadores séricos se han desarrollado y calibrado usando como referencia directa un conjunto de biopsias hepáticas, por lo tanto, el marcador sérico perfecto sería el que fuera capaz de replicar el estándar histológico oro y teóricamente, de esta manera, debería ser capaz de llegar a un AUC de 1^{311, 312}. Como AUC no refleja la precisión de una prueba diagnóstica (accuracy), ya que sólo evalúa la discriminación en comparación con el gold standard, y dado que el VPP, el VPN y las probabilidades pre y post test varían en función de la prevalencia de la enfermedad y el contexto clínico en que se

utiliza la prueba, es importante usar estos datos a la hora de emplear los métodos diagnósticos.

1.7.1.-Fibrosis progression ratio (PFR) o tasa de progresión de la fibrosis (FPR)

Dado que el conocimiento de la etapa de la fibrosis es importante, también lo es la posibilidad de evaluar la velocidad de la progresión de la fibrosis. Se ha observado que la tasa de progresión de la fibrosis (FPR) no se distribuye normalmente (mediana de 0.133 METAVIR grado/año, y media de 0,252 grado/año, IC 95% (0.125-0.143 95 %), sino más bien se trata de una distribución asimétrica. Esta distribución sugirió la presencia de al menos tres poblaciones: una población de "progresores (fibrosers) rápidos", otra de "progresores intermedios" y otra de "progresores lentos". Por lo tanto, el cálculo de una media (o mediana) de la tasa de progresión de la fibrosis por año y de un tiempo medio de espera a la cirrosis no significa que la progresión a cirrosis sea universal e inevitable. La duración media estimada de la infección para la progresión a cirrosis fue de 30 años, que oscilan entre los 13 años en los hombres infectados después de la edad de 40, a 42 años en las mujeres que no beben alcohol y se infectaron antes de cumplir los 40 ³¹⁴.

Las limitaciones de cualquier estimación de la fibrosis incluyen la dificultad en la obtención de biopsias hepáticas pareadas, la necesidad de un gran número de pacientes para lograr la potencia estadística adecuada, y la variabilidad de la muestra en la distribución de la fibrosis. Incluso en los ensayos aleatorios publicados, menos de 50% de los pacientes incluidos se someten a una segunda biopsia tras finalizar el tratamiento antiviral. Además, debido a que el tiempo transcurrido entre las biopsias es relativamente corto (entre 12 y 24 meses), el número de eventos (transición de una etapa a otra) es raro. Por lo tanto, las comparaciones entre las tasas de progresión de fibrosis requieren un tamaño de muestra grande para observar diferencias significativas.

La evaluación de la progresión de la fibrosis en el tiempo se puede lograr por diferentes métodos. La tasa de progresión de la fibrosis observada (tasa directa) se define como la relación de la diferencia en estadios de fibrosis entre dos biopsias, expresados en unidades METAVIR, y el intervalo entre las dos biopsias en años. Por ejemplo, para un paciente con fibrosis etapa 2 en la primera biopsia y la etapa 3 en la segunda biopsia realizada 2 años más tarde, la tasa de progresión de la fibrosis es de 0.500 unidades de fibrosis por año. La ventaja de esta evaluación es que se conoce la

duración exacta. Las limitaciones son que el intervalo entre las biopsias es más bien corto (media, 20 meses) en comparación con el tiempo medio para la transición entre los estadios de fibrosis (7 años) y que hay un riesgo de errores de toma de muestras y la interpretación de las dos biopsias.

La tasa de progresión de la fibrosis anual (FPR) es una tasa indirecta, que se determina por la relación de la etapa de la fibrosis (medida mediante METAVIR) y la duración estimada de infección en años. Los resultados se presentan como unidades de fibrosis por año. Por ejemplo, para un paciente con fibrosis etapa F2 y duración de la infección estimada de 15 años, el FPR sería de $2/15 = 0,133$ unidades de fibrosis por año. La tasa de progresión de fibrosis significativa (significant fibrosis progression -SFP-) se define como ≥ 2 aumento etapa de fibrosis durante el seguimiento, o por $> 30\%$ de aumento en la rigidez del hígado en pacientes con fibrosis de base F3-F4. A la inversa, regresión significativa de la fibrosis hepática se define como un cambio de la fibrosis base (METAVIR) con disminución de ≥ 2 disminución de la fibrosis, o por reducción de $> 30\%$ en la rigidez del hígado en pacientes que mantenían en F3-F4 ⁷⁷.

En este modelo se supone que el paciente no tiene la fibrosis el día de la infección (etapa F0) y que la tasa de progresión de la fibrosis es constante. Las ventajas de esta evaluación son la mayor duración (media, 16 años) y la ausencia de la variabilidad en la infección si el supuesto de F0 es correcto. Las limitaciones son que la duración de la infección puede ser desconocido y, aun cuando se conoce, sigue siendo una estimación: por ejemplo, se supone que la primera transfusión o la primera inyección de drogas por vía intravenosa fue la verdadera fecha de la infección, pero también es posible que algunos pacientes que ya tengan algún grado de fibrosis en el día de la infección, por ejemplo, debido al alcohol.

La evaluación no cuantitativa de la progresión de la fibrosis se puede obtener de forma más simple como el porcentaje de pacientes que empeoran, mejoran o no cambiar su estado entre dos biopsias, siendo ésta la probabilidad de transición de estadio a estadio. La ventaja de esta evaluación es la simplicidad. La desventaja es que no tiene en cuenta el período de observación y la falta de poder discriminante sobre duraciones cortas entre las biopsias.

El uso de estas probabilidades se emplea en el modelo Markov, y son expresadas por unidades de tiempo. Este modelo es posible al tener en cuenta la edad y el sexo, los cuales influyen en la progresión de la fibrosis ³¹⁴.

1.7.2.-Marcadores séricos como herramientas de seguimiento de la fibrosis hepática

Existen algunos estudios en los que se ha valorado los índices no invasivos como predictores de evolución de la fibrosis hepática, tanto en pacientes tratados como no tratados, monoinfectados como en co-infectados por VHC-VIH. Los primeros estudios se dirigen hacia marcadores no invasivos directos (ac. hialurónico, colágeno, etc.) en unión o no con otros marcadores indirectos (ALT, sexo, edad, GGT), y en años posteriores, los estudios se centran más en marcadores indirectos, como los niveles de ALT en combinación con el recuento de plaquetas, clínica, o cambios en AST/ALT, o bien, marcadores indirectos junto con el FibroScan®, todos ellos, con biopsias pareadas o no.

Guechor J et al ³¹⁵ demostró como los niveles de ac. hialurónico están correlacionados con el grado de fibrosis hepática. En otro estudio con 486 pacientes ³¹⁶ se encontró que los niveles de ac. hialurónico < 60 µg/L tenían 99% de precisión a la hora de predecir ausencia de cirrosis pero con un VPP del 30%

En 2001 se publican otros estudios al respecto. En el primero ³¹⁷ donde se comparaban los niveles de ALT, ácido hialurónico, colágeno VII y fibrosis (METAVIR) en 118 pacientes tratados con IFN y que habían curado (RNA negativo) o no (RNA positivo), normalizando los niveles de ALT y disminuyendo los niveles de ac. hialurónico y colágeno VII en los pacientes RNA-negativo.

En el estudio de Leroy et al ³¹⁸ se valoraron los cambios histológicos con biopsias al inicio y al año, los niveles de procolágeno tipo III y ac. hialurónico durante un año en 183 pacientes no respondedores tras tratamiento con IFN alfa, sin que hubieran cambios entre los valores iniciales y de control, tanto de la biopsia como de los marcadores serológicos.

Poynard et al ³¹⁹ en 2002, compararon biopsias, niveles de ac. hialurónico y el FibroTest (α2- macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, GGT y BT, ajustados

por edad y sexo), al inicio del tratamiento, al final del mismo y a la semana 72 en 165 pacientes tratados con IFN alfa. Detectaron una disminución significativa entre el valor del índice predictivo al inicio y en la semana 72 entre los pacientes con respuesta viral sostenida (RVS) comparado con los no respondedores y los que recayeron, pero sin cambios significativos en el nivel del ac. hialurónico.

En 2009, Vergniol et al ³⁰³ publicaron un estudio realizado entre 2003 y 2006 con 416 pacientes no tratados. Los pacientes fueron divididos en dos grupos sobre la base de la evaluación de la fibrosis mediante índices no invasivos: Grupo A (N=112), que sí precisan de tratamiento (FibroScan > 7,1 kPa y / o una indicación de consenso para tratamiento - todos los genotipos 2 y 3 pacientes, genotipo 1 en pacientes con fibrosis significativa -); y Grupo B, que no requieren de tratamiento. Los pacientes del grupo A tenían evaluaciones mediante FibroScan® y FibroTest® al inicio del estudio, al final del tratamiento y 6 meses después del final de tratamiento. Los pacientes del grupo B las tenían al inicio del estudio, 1 y 2 años más tarde. Los datos mostraban, que en el grupo A, los valores de FibroScan® y FibroTest® fueron significativamente mayores antes y después del tratamiento, comparado con el grupo B al inicio del estudio y después de 1 año. Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre el grupo A y el grupo B al final del seguimiento. Los valores FibroScan® y FibroTest® mejoraron en todos los pacientes tratados, cualquiera que sea la respuesta virológica.

Los autores concluyen que cualquiera que sea la respuesta virológica, el tratamiento para la infección por VHC se asocia con una mejora de los valores FibroScan® y FibroTest®, aunque se necesitan más estudios para comparar estos métodos no invasivos con biopsia hepática, y que estos métodos no invasivos serían útiles para evaluar la eficacia del tratamiento en los ensayos clínicos de nuevos tratamientos.

En 2009, Halfon et al ³⁰⁰ publicaron un estudio para evaluar el efecto del tratamiento antiviral sobre diversos marcadores no invasivos, FibroTest®, índice Forns, APRI, SHASTA, FIB-4, HepaScore® y Fibrometer®, en 114 pacientes VIH-VHC al inicio del tratamiento y a los 6 meses de finalizar el tratamiento de 48 semanas.

Para ello, se realizó una biopsia basal (pre-tratamiento) junto con las muestras séricas para realizar los índices no invasivos, y a todos los pacientes, incluidos los que en la biopsia basal tenían F4, se les realizó una nueva biopsia de control e índices

predictivos en la semana 72. Los pacientes fueron tratados con IFN o con IFNp. A la semana 72 (24 semanas después de finalizado el tratamiento), todos los índices excepto el HepaScore®®, mostraban una disminución significativa en los pacientes con RVS ($p < 0.01$), y los pacientes sin RVS tenían valores más elevados, pero también mostraban una disminución en los índices.

En cuanto a la biopsia, el 43% de los pacientes (pacientes con RVS y pacientes sin RVS) no presentaban cambios entre la biopsia basal y la biopsia a las 72 semanas, aunque sí que existía una diferencia estadísticamente significativa en los estadios de actividad necroinflamatoria entre la biopsia basal ya la semana 72 al comparar los pacientes RVS vs no-RVS. La explicación que dieron fue que probablemente esto se debía a que los índices predictivos son más sensibles que la biopsia para detectar pequeños cambios, y menos específicos, valorando finalmente, que los índices predictivos son herramientas rentables y útiles para detectar cambios en la fibrosis hepática incluso a las 6 semanas de finalizar el tratamiento, cuando la biopsia hepática no es capaz de hacerlo.

Anastasiou J. et al ³²⁰ publicaron un estudio en el que se comparó el FibroTest® con el FibroScan® y con la biopsia hepática, en pacientes con VHC, VHB, hepatitis alcohólica, hepatitis autoinmune y esteatosis no alcohólica, con un total de 66 pacientes, con un AUROC similar entre FibroTest® y FibroScan® para detectar $F \geq 2$ (METAVIR) en todos los grupos de pacientes.

En un estudio del grupo del grupo HALT-C ³²¹, con 462 pacientes no tratados, se realizó una biopsia hepática (índice Ishak) al inicio, al segundo y al cuarto año de seguimiento. Así mismo, se determinaron marcadores directos (ac. hialurónico, procolágeno tipo III, inhibidor de la metaloproteinasa – 1 tisular ó IMP-1, y el YKL-40) al inicio y anualmente. Todos los marcadores basales estaban asociados con progresión de la fibrosis y con el desarrollo de complicaciones secundarias a CH. En el estudio de Valva P. et al ³²² en 2011 sobre adultos y niños se llega a resultados similares.

Martínez S.M. et al ²⁹⁵ publicaron un estudio para validar y comparar los índices Forns, APRI, FIB-4 y ELF en la predicción de fibrosis severa y sobre su viabilidad como predictores de cambio en la fibrosis en pacientes tratados (N= 340 inicial y N=161 a las 21 semanas post- tratamiento), usando como “gold standard” la biopsia hepática basal (índice METAVIR) Los cuatro índices mostraron una precisión diagnóstica muy similar

para fibrosis significativa (AUROC de 0.83, 0.83, 0.85 y 0.81, respectivamente). Para identificar cirrosis, el índice FIB-4 (AUROC 0.89) mostró una clara ventaja con respecto al APRI y ELF. En cuanto a los cambios post- tratamiento, se demostró que el índice ELF presentaba un descenso significativo en pacientes con RVS ($p < 0.0001$) pero permanecía sin cambios en los no respondedores. En este estudio no se compararon los valores de los índices no invasivo con una biopsia de control.

Vergniol J et al ³⁰⁴ publicaron un interesante estudio con 1457 pacientes mono y co-infectados con VIH, a los que controlaron durante 5 años (cada 6 ó 12 meses) con biopsia hepática (METAVIR), FibroScan®, FibroTest®, APRI y FIB-4. Se comprobó que la supervivencia estaba significativamente disminuida entre los pacientes diagnosticados de fibrosis severa, independientemente del método no invasivo empleado, siendo el FibroTest® y el FibroScan® los que mejor la predecían. Ambos test tenían una precisión diagnóstica similar (AUROC 0.861 y 0.876, respectivamente), pero mayor que los otros test, FIB-4 con AUROC 0.833 y APRI con AUROC 0.814.

Crisan D et al ³²³ se estudiaron 224 pacientes con hepatitis crónica con genotipo 1 entre 2008 y 2010, con un seguimiento hasta la semana 24 post-tratamiento en aquellos que lo realizaron. Todos tenían una biopsia basal (METAVIR) y con los índices APRI, HAPRI, índice Forns, índice Lok, índice Bonneini y FibroScan®, los cuales también se usaron para el seguimiento, pero sin biopsia de control. Para predecir fibrosis significativa, los índices con mejor AUROC fueron el índice Forns (AUROC 0.815) y el FibroScan® (AUROC 0.860). Para diagnóstico de cirrosis, la mayor precisión diagnóstica la tenía el índice Forns (AUROC 0.877), HAPRI (AUROC 0.887) y FibroScan® (AUROC 0.884). También valoraron el coeficiente de correlación entre los métodos no invasivos con la biopsia, con una correlación de Spearman > 0.6 en todos los métodos, siendo el mejor para el índice Forns ($r = 0.796$) seguido del índice HAPRI ($r = 0.744$).

Por otro lado, se valoraron los métodos no invasivos de forma basal y en el seguimiento (a las 24 semanas del fin del tratamiento de aquellos que fueron tratados) en función de si los pacientes fueron tratados (y si alcanzaron RVS) o no tratados. Los índices APRI, HAPRI y Bonacini mostraron un descenso estadísticamente significativo en el grupo tratado, independientemente de la respuesta viral, mientras que en los pacientes no tratados, los valores aumentaban. El índice Forns mostraba un comportamiento similar, pero sin ser estadísticamente significativo entre los pacientes con RVS o no respondedores. En cuanto al FibroScan®, los valores disminuían en los pacientes con

RVS pero sin cambios en los pacientes no respondedores ni en los que no recibieron tratamiento.

Vergniol J et al ³²⁴ valoró durante 3 años el valor pronóstico de los índices APRI, FIB-4 y medida de la rigidez hepática mediante elastografía, con una medición basal y otra al final del periodo de seguimiento (delta: valor seguimiento-valor basal/duración) en 1025 pacientes. Entre FIB-4 y la elastografía no había diferencias estadísticamente significativas en la exactitud pronóstica, mientras que el FIB-4 era más fiable que el índice APRI. Aquéllos con elastografía basal <7 KPa, con RVS o sin aumento de los valores de la elastografía (< 1 KPa/año), mostraban un pronóstico excelente en cuanto a la supervivencia. Se comprobó que el FIB-4 basal y delta también identificaban los subgrupos de pacientes con diferente pronóstico de supervivencia. Por lo cual, concluyen que la evolución de las pruebas no invasivas de fibrosis hepática tienen un importante valor pronóstico en pacientes con hepatitis C, con lo que aconsejan su uso para controlar los pacientes y predecir su evolución.

1.8.-TRATAMIENTO DE VHC

Actualmente, el tratamiento antiviral para la hepatitis crónica por virus C está establecido por diferentes guías ^{325, 326, 327}. Hasta hace 3 años, el tratamiento incluía exclusivamente interferón pegilado alfa 2a o 2b (IFNp) y ribavirina (RBV) durante un periodo que oscilaba entre 12, 24 ó 48 semanas, según los casos y los genotipos, pero con tasas de curación que en caso del genotipo 1, alcanzaban menos del 50%, dependiendo de factores como el genotipo viral, el peso, el sexo, la presencia de fibrosis en la biopsia y el gen IL28B rs12979860 ^{328, 329}. En 2011, además, se combinaron con la primera generación de inhibidores de la proteasa NS3/4^a (telaprevir y boceprevir).

Conseguir la RVS, lo que es equivalente a curación, con tratamiento antiviral, cambia de forma radical la historia natural de la hepatitis crónica C. Los beneficios a largo plazo de la RVS son evidentes, y se ha demostrado que va seguida de mejoría de las lesiones histológicas hepáticas, incluyendo el estadio de fibrosis, como se demostró en un estudio con 1509 pacientes de tres ensayos controlados aleatorizados en los que se realizó biopsia hepática antes y después de la terapia combinada ^{328, 329}. Algunas

comunicaciones sugieren que incluso los sujetos con grado avanzado de enfermedad hepática que logran erradicar la infección experimentan una mejoría en los parámetros de función hepática³³⁰, lo que a largo plazo se traduce en una disminución del número de cáncer hepatocelular y una reducción de la mortalidad de causa hepática³³¹, disminuyendo también morbilidad asociada a las complicaciones extrahepáticas de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC).

En la actualidad, la llegada de los fármacos antivirales de acción directa frente al VHC (AAD) ha generado la posibilidad real de curar a la mayor parte de los pacientes con hepatitis crónica C. En los últimos años se han desarrollado multitud de fármacos antivirales, con diferentes objetivos de acción sobre el mecanismo de acción del VHC al infectar la célula hepatocitaria³³². Actualmente, las enzimas virales NS3/4A proteasa y la NS5B polimerasa, son las moléculas mejor estudiadas en la creación de nuevos fármacos. Otras enzimas virales que se han estudiado como posibles targets para la curación de la hepatitis por VHC, como la helicasa, la NS2 proteasa y la NS5A, cuyo problema principal era que se observó la aparición de resistencias, se ha resuelto con la combinación de varios fármacos, y desde hace pocos meses están en nuestro arsenal terapéutico.

Los primeros antivirales de acción directa que salieron al mercado fueron los inhibidores de la N3 y la NS4A, el Telaprevir³³³ y el Boceprevir³³⁴. Entre los medicamentos comercializados recientemente³³⁵ se encuentra el Sofosbuvir (GS-7977) (Sovaldi®)³³⁶, el Simeprevir (TMC 435350) (Olysio®)^{338, 339}, el Daclatasvir (BMS 790052) (Daklinza®)³⁴⁰, Sofosbuvir/Ledipasvir (GS 5885) (Harvoni®)^{341, 342}, Ombitasvir/Parietavir (Viekirax®)³⁴³, Dasasuvir (ABT 333) (Exviera®) combinados con o sin ribavirina. Si bien los medicamentos no han sido comparados entre sí, todos ellos tienen tasas de curación superiores al 85% incluso en aquellos pacientes con predictores negativos de respuesta (cirrosis descompensada, respondedores nulos a terapias con combinaciones con interferón, etc.). Sin embargo, el alto coste de estos fármacos junto con la naturaleza lentamente progresiva de la infección por VHC, ha llevado a crear guías clínicas para priorizar los pacientes candidatos a tratamiento, en qué momento iniciar el tratamiento y qué combinaciones usar^{325, 326, 327}. Actualmente en nuestro país, estos agentes antivirales de acción directa no se recomiendan a los pacientes con fibrosis F0-F1 y sin enfermedades extrahepáticas asociadas a VHC (vasculitis linfocítica asociada a crioglobulinemia asociada a VHC, nefropatía por inmunocoplejos y linfoma de células B

tipo no Hodgkin), ni tampoco a los pacientes con expectativa de vida corto secundario a patologías diferentes a comorbilidad asociada a la enfermedad hepática ³²⁵.

En los pacientes que no son candidatos al tratamiento o que presentan una enfermedad crónica asintomática de evolución incierta, es importante evaluar la estrategia de seguimiento más coste/efectiva. No se trata de un grupo homogéneo de pacientes y probablemente el riesgo de desarrollar cirrosis hepática en cada uno de ellos es diferente y por tanto, el seguimiento que requieren también es distinto.

Actualmente, las guías aceptan los métodos no invasivos en la evaluación inicial del estadio de fibrosis (A1), debiendo reservar la biopsia hepática para la evaluación de pacientes con enfermedades concomitantes o con valores discordantes de los métodos no invasivos (A1); en pacientes con cirrosis y RVS parece aconsejable controlar la evolución de la fibrosis por medios no invasivos, si bien este aspecto carezca actualmente de aplicación clínica (C2) ³²⁶.

Actualmente, las **indicaciones de tratamiento** según la EASL son ^{325, 327}

- Pacientes con fibrosis avanzada (F3 y cirrosis hepática (F4) (A1)
- Pacientes con cirrosis descompensada (Child-Pugh B y C) deben ser urgentemente tratados con pautas libres de IFN (A1)
- Recurrencia tras trasplante hepático (A1)
- Pacientes con manifestaciones extrahepáticas severas (crioglobulinemia sintomática, enfermedad por inmunocomplejos, nefropatía, vasculitis leucocitoclástica, polineuropatía) (A1)
- Independientemente de su grado de fibrosis, en pacientes con co-infección VHB y/o VIH (A1)
- El tratamiento de individuos con elevado riesgo de transmisión, que ha de ir acompañado de medidas de prevención de la reinfección destinadas a grupos como los usuarios de drogas parenterales, los varones homosexuales con infección por VIH, los internos en centros penitenciarios, las mujeres con deseo de embarazo (sólo sofosbuvir), los pacientes en hemodiálisis y aquellos que sean candidatos a trasplante renal (B1).

II. JUSTIFICACIÓN

2.- JUSTIFICACIÓN

Como se ha comentado previamente, la hepatitis crónica por virus C es una enfermedad con una alta prevalencia en nuestro medio. Evoluciona a la cronicidad de forma asintomática y por tanto en muchos casos no es detectada, y hasta un 20-30% de los pacientes progresaran a cirrosis hepática en un periodo de tiempo que oscila entre 10 y 20 años. Actualmente, en nuestro país, la infección por hepatitis C es la causa más frecuente de cirrosis hepática y la principal indicación de transplante hepático, siendo un importante problema de salud pública.

Hasta hace pocos tiempo, el método diagnóstico "gold estándar" para valorar el grado de evolución de la hepatitis crónica por virus C era la biopsia hepática, e incluso algunos autores aconsejaban la realización de biopsias hepáticas periódicas.

Actualmente, las guías aceptan los métodos no invasivos en la evaluación inicial del estadio de fibrosis (A1), debiendo reservar la biopsia hepática para la evaluación de pacientes con enfermedades concomitantes o con valores discordantes de los métodos no invasivos (A1); en pacientes con cirrosis y RVS parece aconsejable controlar la evolución de la fibrosis por medios no invasivos (C2)³²⁶.

Hasta la actualidad, se han publicado múltiples marcadores no invasivos de cirrosis hepática que incluyen datos clínicos o analíticos, como el Forns, modelo basado en datos analíticos de rutina para predecir fibrosis significativa, pero de difícil aplicación a la cabecera del paciente; el APRI, índice fácil de calcular a través de una fórmula sencilla usando valores analíticos de rutina, con una exactitud diagnóstica del 51% para fibrosis significativa y del 81% para cirrosis. No obstante, la validez de los mismos en el seguimiento a largo plazo de estos pacientes no ha sido determinada.

En nuestra Unidad también se elaboró y validó un índice para valorar presencia de cirrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica por virus C, el índice Sabadell's NIHCED¹⁹⁷, citado en varios estudios^{344, 345, 346, 347, 348}, a partir de una población de 332 pacientes. Para la realización del índice Sabadell's NIHCED, se seleccionaron de forma prospectiva y consecutiva aquellos pacientes con hepatitis crónica por VHC evaluados en la Unidad de Hepatología del Hospital de Sabadell (Barcelona) desde Enero de 1993 hasta Julio de 1999, que cumplían los criterios de inclusión establecidos. Los datos

obtenidos de los primeros 170 pacientes consecutivos se utilizaron para el desarrollo del índice predictivo (de Enero a Junio de 1997) (grupo de estimación). Después de esta fase, los siguientes 162 pacientes consecutivos, fueron reclutados para validarlo (grupo de validación) (entre Septiembre de 1997 y Julio de 1999). A todos los pacientes se les realizó una historia clínica con datos epidemiológicos y una exploración física por aparatos. Se les realizó una analítica (hemograma, coagulación, bioquímica con enzimas hepáticas, autoinmunidad y RNA-VHC).

También, se realizó una ecografía-doppler hepática evaluando 13 variables ecográficas: hepatomegalia (diámetro craneocaudal en la línea axilar media >14 cm), atrofia del lóbulo hepático derecho (diámetro longitudinal <9 cm), hipertrofia del lóbulo caudado (diámetro >4 cm), aumento del lóbulo hepático izquierdo (diámetro anteroposterior >5 cm), hígado graso, patrón grueso, superficie del hígado de aspecto nodular, nódulos de regeneración, diámetro de la vena porta > 13 mm, esplenomegalia (bazo >13 cm), ascitis, venas portosistémicas colaterales, y cuerpos Gandy Gamma (focos de los depósitos de hierro en el parénquima esplénico por hemorragia intraparenquimatosa).

A todos los pacientes se les realizó una biopsia hepática guiada por ecografía mediante aguja de tru-cut, y el grado de fibrosis fue evaluada mediante la escala de Knodell.

De todas las variables estudiadas, doce de ellas presentaban diferencias estadísticamente significativas ($p<0.15$) en el análisis univariante, y por tanto, fueron seleccionadas para el estudio multivariante: (AST; $AST/ALT \geq 1$; $INR \geq 1$, recuento de plaquetas ≤ 100 ($\times 10^9/L$), bilirrubina total; fosfatasa alcalina; gamma-globulinas; recuento de glóbulos blancos; neutrófilos; linfocitos; hemoglobina; edad. **Fig. 27.**

Variable	No cirrosis (n=123)	Cirrosis (n=47)	P value
Albumin (g/l)	39.2 (10.8)	37.6 (9.3)	NS
Total bilirubin (mg/dl)	0.64 (0.31)	0.9 (0.49)	0.002*
Alkaline phosphatases (U/l)	185.0 (98.7)	232.4 (95.0)	0.005*
Gamma glutamyl transpeptidase (U/l)	62.8 (58.0)	78.4 (79.4)	NS
AST (U/l)	82.0 (52.2)	107.3 (74.1)	0.036*
ALT (U/l)	127.2 (89.7)	132.1 (120.9)	NS
AST/ALT ratio	0.69 (0.25)	0.91 (0.31)	<0.001*
Prothrombin ratio (International Normalized Ratio)	1.01 (0.15)	1.11 (0.09)	<0.001*
G-globulins (g/l)	16.0 (6.5)	19.9 (8.0)	0.002*
Platelet count ($\times 10^9/l$)	173.8 (57.7)	108.4 (50.5)	<0.001*
White cell count ($\times 10^9/l$)	6.6 (2.5)	5.6 (1.8)	0.015*
Neutrophils ($\times 10^9/l$)	3.3 (1.8)	2.8 (0.9)	0.07*
Lymphocytes ($\times 10^9/l$)	2.2 (8.6)	1.9 (0.7)	0.019*
Mean corpuscular volume (fl)	90.6 (9.1)	92.7 (6.1)	NS
Creatinine (mg/dl)	0.93 (0.14)	0.94 (0.14)	NS
Hemoglobin (g/dl)	14.6 (1.5)	14.2 (1.3)	0.045
Age (years)	48.9 (12.8)	59.9 (11.0)	<0.001*
Urea (mg/dl)	35.5 (8.8)	36.3 (9.1)	NS

Fig. 27: Análisis univariante de datos clínicos y de laboratorio en pacientes con y sin cirrosis en el grupo de desarrollo. Datos presentados como media (DS)

*Variables seleccionadas para el análisis multivariante ($p < 0.05$)

(Obrador BD, Prades MG, Gomez MV, et al. A predictive index for the diagnosis of cirrhosis in hepatitis C based on clinical, laboratory, and ultrasound findings. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006;18(1):57-62)

De los 13 signos ecográficos, diez variables (ascitis, atrofia del lóbulo hepático derecho, hipertrofia del lóbulo caudado, superficie hepática nodular, esplenomegalia, hepatomegalia, hipertrofia del lóbulo hepático izquierdo; nódulos de regeneración, aumento del diámetro de la vena porta y patrón grueso) se asociaron significativamente con la presencia de cirrosis en la histología en el análisis univariado ($p < 0,15$), y por tanto, fueron seleccionados para el análisis multivariado.

El estudio multivariante mostró siete variables como predictores independientes de cirrosis: edad ≥ 60 años, recuento de plaquetas ≤ 100 ($\times 10^9/l$), ratio AST/ALT ≥ 1 ; TP ≥ 1.1 , atrofia del lóbulo hepático derecho, hipertrofia del lóbulo esplenomegalia y caudado, con el siguiente índice. **Fig. 28.**

A cada uno de los 162 pacientes del grupo de validación, se les calculó el índice, asignándoles de esta manera un valor de índice predictivo de cirrosis, basada en el modelo desarrollado. Sobre la base de la curva ROC, cuando el marcador era ≥ 22 , la sensibilidad fue del 86%, la especificidad del 90 %, VPP del 73%, VPN del 97 % y una exactitud diagnóstica del 94%, para diagnóstico de cirrosis hepática. Cuando el índice se

aplicó a los 332 pacientes, con un punto de corte ≥ 22 para establecer el diagnóstico de cirrosis, la sensibilidad fue de 86%, la especificidad del 90%, el VPP 86%, el VPN 96.4% y una exactitud diagnóstica del 90%.

Índice predictivo de hepatitis crónica por virus C (NIHCED)

Edad ≥ 60	13 puntos
Tiempo de protrombina ≥ 1.1	10 ptos
Plaquetas ≤ 100.000	15 ptos
GOT/GPT ≥ 1	10 ptos
Hipertrofia del lóbulo caudado	6 ptos
Atrofia del lóbulo hepático derecho	15 ptos
Esplenomegalia $>13\text{cm}$	7 ptos

Fig. 28: Índice NIHCED. (Adaptado de Obrador BD, Prades MG, Gomez MV, et al. A predictive index for the diagnosis of cirrhosis in hepatitis C based on clinical, laboratory, and ultrasound findings. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006;18(1):57-62)

Al compararlo con el índice APRI, la sensibilidad para diagnosticar cirrosis (punto de corte >2) es del 57%, especificidad del 93%, un VPP del 57% y un VPN del 93%, con un AUC del 0.89. El índice Forns fue creado y validado por sus autores para el diagnóstico de fibrosis significativa.

	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	AUC
APRI	>2	57	93	57	93	0.90
NIHCED	≥ 22	80	96	73	97	0.91

Por tanto, el propósito de esta tesis es por un lado, valorar si el Sabadell's NIHCED es también útil como índice predictivo de fibrosis significativa en pacientes con hepatitis crónica por VHC, y por otro lado, hemos querido analizar la utilidad de los índices no invasivos más comunes (Forns y APRI) para predecir la evolución a cirrosis hepática y la mortalidad secundaria a la hepatitis crónica por virus C.

III. HIPÓTESIS

3.- HIPÓTESIS

1. El índice no invasivo NIHCED es un método sensible y específico para la valoración de fibrosis significativa en la hepatitis crónica por VHC
2. El test de Forns es un método no invasivo sensible, específico y con gran exactitud diagnóstica para la detección de cirrosis.
3. El índice APRI es un método no invasivo sensible, específico y con gran exactitud diagnóstica de detección de cirrosis.
4. El índice no invasivo NIHCED predice el riesgo de progresión a cirrosis hepática a largo plazo en los pacientes con hepatitis crónica por virus C.
5. El índice no invasivo Forns predice la progresión a cirrosis hepática a largo plazo en los pacientes con hepatitis crónica por VHC.
6. El índice no invasivo APRI predice la progresión a cirrosis hepática a largo plazo en los pacientes con hepatitis crónica por VHC.
7. Los índice no invasivos Forns, APRI y NIHCED predicen el riesgo de muerte en pacientes con hepatitis crónica por virus C.

IV. OBJETIVOS

4.- OBJETIVOS

1. Evaluar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo y la precisión diagnóstica del NICHED para determinar la presencia de fibrosis significativa de una forma no invasiva en los pacientes con hepatitis crónica por VHC.
2. Evaluar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo y precisión diagnóstica del índice Forns y APRI para determinar la presencia de cirrosis de una forma no invasiva en los pacientes con hepatitis crónica por VHC.
3. Analizar si los valores basales del índice Forns, índice APRI, y el Sabadell NICHED son factores predictores de progresión a cirrosis en los pacientes con hepatitis crónica por virus C.
4. Analizar los posibles factores pronósticos de evolución a cirrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica por virus C.
5. Analizar si los valores basales del índice Forns, APRI y el Sabadell NICHED son factores predictores de mortalidad por complicaciones de la cirrosis hepática en los pacientes con hepatitis crónica por VHC.
6. Generar un árbol de decisión de diagnóstico de cirrosis hepática usando los índices no invasivos.

V. ESTUDIO I

Se ha desarrollado un estudio clínico prospectivo con pacientes diagnosticados de hepatitis por VHC. El estudio se ha realizado en el Hospital de Sabadell (Barcelona), hospital comarcal con 800 camas y con una población de referencia de aproximadamente 400.000 habitantes.

La presente tesis está diseñada en dos estudios diferentes relacionados entre sí y en donde se evalúa la capacidad de diagnóstico y predicción de los métodos no invasivos en la hepatitis crónica por VHC y que están relacionados entre sí:

- Estudio 1: Evaluación de la fibrosis hepática significativa mediante el índice NIHCED en pacientes con hepatitis crónica por virus C.
- Estudio 2: Validación externa de los índices APRI y Forns para el diagnóstico de cirrosis. Evaluación de la utilidad de los índices no invasivos APRI, Forns y NIHCED para predecir la evolución a cirrosis hepática en los pacientes con hepatitis crónica por virus C. Factores pronósticos de progresión de la cirrosis hepática.

Los estudios se han realizado de forma consecutiva. La selección de pacientes, y la metodología clínica, de laboratorio, ecográfica y de biopsia son iguales, pero los objetivos son diferentes, por lo que se explicaran por separado cada uno de ellos.

5.- ESTUDIO I: EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA SIGNIFICATIVA MEDIANTE EL ÍNDICE NIHCED EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C.

5.1.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.1.- Selección de pacientes.

Se seleccionaron de forma retrospectiva a aquellos pacientes con hepatitis crónica por VHC evaluados en la Unidad de Hepatología para la validación del NIHCED.

Los **criterios de inclusión** fueron:

1. Presencia de hepatitis C crónica asintomática, con aumento de los niveles de enzimas hepáticas durante como mínimo 6 meses, medidas en al menos 2 determinaciones diferentes, confirmada mediante niveles detectables de RNA-VHC en suero.
2. Sin evidencia de cirrosis hepática en la biopsia inicial.
3. Aceptación de participar en el estudio a través de un consentimiento informado y no presentar ningún criterio de exclusión

Los **criterios de exclusión** fueron los siguientes:

1. Presencia de cualquier enfermedad hepática concomitante: hemocromatosis (hierro, ferritina, ISTI), enfermedad de Wilson (cobre libre y ceruloplasmina), hepatitis crónica por virus B (HBsAg), hepatotoxicidad inducida por fármacos, VIH positivo, hepatitis autoinmune (ANAs, Ac- anti célula del músculo liso), hepatitis alcohólica y α -1 antitripsina (niveles de antitripsina).
2. Presencia de otra enfermedad con mal pronóstico vital a corto plazo (neoplasia diseminada, insuficiencia renal avanzada...).
3. Cirrosis hepática ya establecida: cirrosis histológica en la biopsia o presencia de hipertensión portal en forma de varices esofágicas, ascitis, encefalopatía hepática o hepatocarcinoma.

4. Consumo de alcohol > 20 g/día u otras drogas.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Sabadell (Barcelona) y diseñado según las guías éticas de 1975 de la Declaración de Helsinki, revisado en 1983.

5.1.2.- Diseño del estudio.

El estudio se realizó entre Febrero de 2008 y Septiembre de 2008 ¹⁹⁸. Para ello se recogieron los datos de los pacientes infectados con hepatitis crónica por VHC evaluados en la Unidad de Enfermedades Hepatología, con biopsia hepática desde Enero de 1993 y hasta Julio de 1999, el cual era el grupo que sirvió para elaborar y validar el índice NIHCED como predictor de cirrosis ³⁸⁶.

De forma retrospectiva, se correlacionaron entre si los datos cuantitativos obtenidos de las biopsias hepáticas basales (grado de fibrosis según índice de Knodell) con la puntuación obtenida del índice NIHCED, que se calculó de forma prospectiva con los datos analíticos, demográficos y ecográficos del momento de la biopsia basal. El intervalo máximo entre la realización de la biopsia y los resultados de laboratorio empleados para realizar los índices fue de máximo 3 meses.

5.1.3.- Metodología clínica.

A todos los pacientes seleccionados que aceptaron participar en el estudio, se les realizó una historia clínica exhaustiva. Se recogió datos demográficos, antecedentes patológicos y epidemiológicos, y la posible presencia de descompensaciones relacionadas con evolución a cirrosis; además, se realizó una exploración física por aparatos.

5.1.4.- Metodología de laboratorio

A todos los pacientes se les realizó una analítica y serologías completas.

a) Determinaciones analíticas

Se realizaron las siguientes determinaciones: hemograma completo con recuento de leucocitos totales con el porcentaje de neutrófilos y linfocitos, hemoglobina, volumen corpuscular medio, recuento de plaquetas, tiempo de protrombina (ratio), albúmina (mg/dL), bilirrubina total y directa (U/L), creatinina (mg/dL), urea (mg/dL), FA (U/L), GGT (U/L), ALT (U/L); AST (U/L), AST/ALT ratio y gammaglobulinas.

Se solicitó el estudio de Autoanticuerpos no organoespecíficos (ANOE). Se incluyeron los siguientes: Antinucleares (ANA), Antimitocondriales (AMA), Anti-músculo liso (AML), Antimicrosomales hepato-renales (anti-LKM-1) por técnicas de inmunofluorescencia indirecta sobre triple tejido.

En algunos pacientes se habían determinado las crioglobulinas, lo cual se había realizado mediante la extensión a 37° C, con separación del suero y mantenimiento a 4° C durante 5 días. Si eran positivas, se centrifugaban a 4500 rpm a 4° C durante 30 minutos para separación del crioprecipitado que tras 4 lavados con PBS frío, se cuantificaban y estudia por inmunoelectroforesis.

b) Determinaciones virológicas

Se determinó la detección del RNA-VHC. En nuestro hospital, la técnica empleadas hasta 2001 fue la técnica de Cobas Amplicor, con extracción manual del ARN y posterior amplificación y detección en un analizador Cobas Monitor (Roche Diagnostics) con un límite de detección de < 600 UI/ml.

5.1.5.- Metodología de la ecografía hepática

A todos los pacientes se realizó una ecografía-doppler hepática estudiando las 13 variables ecográficas identificadas inicialmente para validar el NIHCED. Finalmente, para calcular el índice NIHCED se tuvieron en cuenta las siguientes variables ecográficas:

1. Hipertrofia del lóbulo caudado (diámetro > 4 cm)
2. Atrofia del lóbulo hepático derecho (diámetro longitudinal < 9 cm)
3. Esplenomegalia (>13cm)

El estudio ecográfico desde 1993 al 2003 fue realizado usando el equipo Toshiba 140 Aloka SSD-650 (Toshiba Medical Systems, Zoetermeer, Netherlands; Aloka Espana SL, Madrid, Spain). Todas las pruebas fueron realizadas por un único y experimentado radiólogo del centro UDIAT del Hospital de Sabadell.

5.1.6.- Metodología de los índices predictivos de fibrosis hepática

A todos los pacientes se realizaron los índices APRI y Forns basales de forma retrospectiva (en el momento de la biopsia basal estos índices no habían sido publicados) y el índice NIHCED basal de forma prospectiva. Para ayudarnos en este proceso, creamos un Excel donde introducir las variables y conocer los resultados de todos los índices. **Fig. 29. Anexo 1,2, 3.**

Índice no invasivos	Parámetros evaluados	Fórmula aplicada	Cut-offs	Estadísticos				
				S	E	AUC	Accuracy	
Índice Forns	GGT Recuento plaquetar Edad Colesterol	$7.811-3.131 \times \text{Ln}(\text{recuento plaquetar}) + 0.78 \times \text{Ln}(\text{GGT}) + 3.467 \times \text{Ln}(\text{edad}) - 0.014 \times (\text{colesterol})$	Ausencia de fibrosis significativa: <4.2	Ausencia de Fib sign	0.94	0.51	0.81	96%
			Presencia de fibrosis significativa: >6.9	Presencia de Fib sign	0.3	0.89		66%
APRI	AST Recuento plaquetar	$[\text{AST (ULN)}/\text{recuento plaquetar (10}^9\text{/L)}] \times 100$	Ausencia de fibrosis significativa: <0.5 Presencia de fibrosis significativa: ≥ 1.50	Presencia de Fib sign	0.41	0.95	0.80	51%
			Ausencia de cirrosis: ≤ 1.0 Presencia de cirrosis: >2.0	Presencia de cirrosis	0.57	0.93	0.89	81%
Sabadell's NIHCE	Edad ≥ 60 años T.Protrombina ≥ 1.1 Plaquetas ≤ 100.000 AST/ALT ≥ 1 Hipertrofia lóbulo caudado Atrofia lóbulo hepático derecho Esplenomegalia ≥ 13 cm	13 puntos 10 puntos 15 puntos 10 puntos 6 puntos 15 puntos 7 puntos	Presencia de fibrosis significativa: >6	Presencia de Fib sign	0.72	0.763	0.79	72.5%
			Presencia de cirrosis: ≥ 22	Presencia de cirrosis	0.80	0.96		94%

Fig. 29: Índices no invasivos evaluados y puntos de corte

5.1.7.- Metodología de la biopsia hepática

Para la realización de las biopsias hepáticas, desde 1993 hasta 2002, se usó una aguja trucut manual centrimetrada del 14 G (Tru-cut, Allegiance Health Corporation, EEUU).

Las muestras fueron fijadas en FAA (formaldehído, alcohol, y ácido acético) y embebidas en parafina. Las secciones hepáticas biopsiadas fueron teñidas con hematoxina-eosina, tricómico de Masson, y opcionalmente, tinción de Gordon-Sweet para reticulina.

Todas las muestras fueron revisadas por una patóloga experimentada de la Unidad de Anatomía patológica del Hospital de Sabadell, con más de 20 años de experiencia, la cual desconocía la historia clínica y los resultados de laboratorio de los pacientes. El grado de fibrosis fue evaluada mediante la escala de Knodell.

5.1.8.- Metodología estadística

El grado de fibrosis hepática obtenida mediante biopsia (índice de Knodell) se correlacionó con el valor del índice NIHCED mediante curva ROC. Los datos obtenidos se procesaron con el paquete SPSS versión 15 para Windows (SPSS Inc., Chicago; USA) para su análisis.

Las variables cuantitativas se expresaron como media \pm desviación estándar mediante el test de Mann-Withney, la t de Student y el test de la chi-cuadrado (test de χ^2). Para las variables cualitativas, se empleó el test de Hosmer-Lemeshow. La correlación fue evaluada mediante el coeficiente de Spearman. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

La prueba t de Student se empleó para comparación de variables continuas. Cuando la normalidad de la distribución no se podía asumir, o cuando el tamaño de la muestra fue de < 10 observaciones en cualquier grupo, se aplicó la prueba de U de Mann-Whitney.

Para las variables categóricas se empleó la comparación de proporciones mediante el test de χ^2 . Cuando la tabla de contingencia de 2×2 de los valores esperados era < 5 , se aplicó el test de Fisher.

Las correlaciones de las variables cuantitativas (índice Sabadell NIHCED) con variables ordinales (fibrosis hepática, mediante índice de Knodell) fueron realizadas mediante el coeficiente de correlación de Spearman. Un valor de $p < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

Con los datos demográficos, analíticos, ecográficos e histológicos se calculó el índice de fibrosis Sabadell NIHCED, con el mejor cut-off para detectar fibrosis leve (Knodell F0-1) de fibrosis significativa (Knodell F3-4).

El grado de fibrosis mediante Knodell se correlacionó con el valor del índice Sabadell NIHCED usando la curva ROC y su análisis. Se calculó el AUROC, la sensibilidad, especificidad, VPP, VPNN y su exactitud diagnóstica (accuracy), y con ello pudimos diferenciar a los pacientes en dos grupos: los que

tienen una ausencia histología de fibrosis demostrable (Knodell F0), o sólo fibrosis en forma de expansión portal (Knodell F1), y los que presentaban fibrosis significativa (Knodell F3) o cirrosis establecida (Knodell F 4).

5.2.- RESULTADOS

5.2.1.- Descripción general de la muestra. Características epidemiológicas y clínicas.

Se incluyeron un total de 321 pacientes infectados por VHC y evaluados en la Unidad de Hepatología y con biopsia hepática desde Enero de 1993 y hasta Julio de 1999. A todos ellos se les calculó el índice NIHCED. El análisis de datos se realizó entre Febrero de 2008 y Septiembre de 2008.

Del total de los 332 pacientes, 11 pacientes fueron excluidos por no poder acceder a sus datos clínicos. Los 321 pacientes restantes se clasificaron en dos grupos según el grado de fibrosis hepática por biopsia, aquéllos con fibrosis no significativa (Knodell F0-F1) con un total de 131 pacientes (30.5%) vs pacientes con fibrosis significativa (Knodell F3-F4) con un total de 190 pacientes (69.5% del total). La edad media fue de 48 ± 14 años y la ratio hombre/mujer de 1.27.

5.2.2.- Desarrollo del índice predictor de fibrosis significativa.

5.2.2.1. Análisis univariante. Características clínicas, de laboratorio, ecográficas y anatomopatológicos.

De todos los pacientes se recogieron datos de laboratorio y ecográficos. **Fig. 30, Fig. 31.** De los 131 pacientes (30.5%) con fibrosis no significativa (Knodell F0 y F1), 33 pacientes (25.19%) tenían F0, y 98 pacientes (74.8%)

tenían F1. La edad media fue de 41.66 años (rango de edad entre 18 y 71 años).

De los 190 pacientes (69.5% del total) del grupo de pacientes con fibrosis significativa (Knodell F3 y F4) 127 pacientes (66.7%) tenían F3, y 63 pacientes (33,3%) tenían F4. La edad media fue de 53.06 (rango de edad de 22 a 75 años). El rango de edad más frecuente fue el comprendido entre los 56 y 64 años (32.7.8%), siendo los pacientes con 60 años (5.3%) y 61 años (4.7%) los más frecuentes.

<i>Grado de fibrosis (N pacientes)</i>	<i>Edad (años)</i>	<i>TP (ratio)</i>	<i>Plaquetas (10^9 /l)</i>	<i>GOT/GPT</i>
F0 (33)	38	1	217000	0.6
F1 (98)	43	1	213000	0.63
F3 (127)	50	1.05	162000	0.7
F4 (63)	59	1.12	112000	0.92

Fig. 30: Datos analíticos medios según el grado de fibrosis hepática por biopsia (índice Knodell)

	<i>Esplenomegalia N pacientes (%)</i>	<i>Hipertrofia de lóbulo caudado N (%)</i>	<i>Atrofia de lóbulo hepático derecho N (%)</i>
F 0	1 (3%)	0	0
F 1	7 (7%)	6 (6%)	1 (1%)
F 3	17 (13%)	21 (16%)	7 (5.5%)
F 4	34 (54%)	43 (70%)	27 (43%)

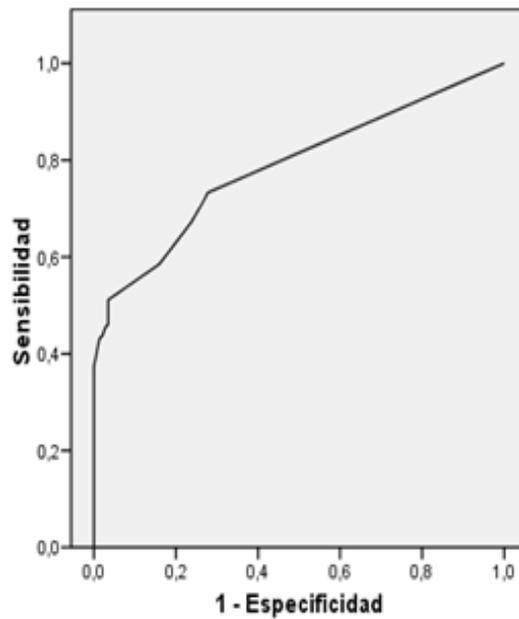
Fig. 31: Datos ecográficos según el grado de fibrosis hepática por biopsia (índice Knodell)

5.2.2.2. Curva ROC

La correlación de Spearman entre la fibrosis hepática por fibrosis (Knodell) vs el índice NIHCED tuvo un coeficiente de $r = 0.65$.

Con estos datos, se correlacionó el grado de fibrosis según el índice de Knodell con el valor del índice NIHCED mediante curva ROC. Se seleccionó una puntuación de > 6 como la mejor combinación de sensibilidad, especificidad y exactitud diagnóstica (accuracy) para detectar fibrosis

significativa (Knodell F3 y F4). La sensibilidad fue del 72%, especificidad del 76.3%, VPP del 81%, VPN del 63.7% y una exactitud diagnóstica (accuracy) del 72.5%. El área bajo la curva fue de 0.79 (95%, IC 0.74-0.84). Se calcularon las razones de verosimilitud positiva y negativa del test (likelihood ratio) con resultado de LR (+) 3.04 y LR (-) 0.37. Los datos se muestran en la siguiente tabla (**Fig. 32**)



Puntuación de Sabadell's NIHCED para detectar fibrosis significativa > 6

Sensibilidad	72%	VPP	81%
Especificidad	76.3%	VPN	63.7%
Área bajo la curva	0.79	Accuracy	72.5%

Fig. 32: Curva de ROC y datos de S, E, VPP, VPN y AUROC para fibrosis significativa

5.3.-DISCUSIÓN

La hepatitis C es una infección inflamatoria del hígado causada por el VHC, y aproximadamente 170 millones de personas están infectadas en todo el mundo¹³, siendo responsable de más de 350.000 muertes al año. Por otro lado, la infección por VHC es el factor de más riesgo para desarrollar CHC, además de una causa principal de desarrollo de cirrosis hepática (20% de los casos)^{8, 24, 77, 85, 106, 127} y de otras afectaciones extrahepáticas^{6, 63, 64, 65, 66}, siendo todo ello altamente invalidante para el paciente, además del coste sanitario que supone dichas complicaciones^{21,33, 292}. Por todo ello, es vital un pronóstico preciso de la evolución de la enfermedad para poder aportar un asesoramiento correcto al paciente.

El pronóstico de la hepatitis crónica por VHC depende en gran medida de la progresión de la fibrosis hepática, que constituye la consecuencia final de la lesión crónica del hígado. Los resultados de nuestro estudio muestran como el índice NIHCED permite valorar con bastante exactitud aquellos pacientes que ya presentan fibrosis significativa y que por tanto tienen un alto riesgo de evolucionar a cirrosis con las complicaciones que de ello se derivan. Asimismo, los resultados obtenidos son comparables a otros índices no invasivos desarrollados que también valoran los pacientes con fibrosis significativa.

En los últimos años, la biopsia hepática ya no se considera el “gold standard” en el diagnóstico de la fibrosis significativa en la infección por virus C dado que puede presentar un porcentaje no despreciable de falsos positivos y falsos negativos, determinado por el error muestral y por la diferencia inter-observador, Colloredo et al.¹³⁹ en un estudio que incluía 161 biopsias observó que cuando en éstas se valoraba un fragmento más corto o más delgado la interpretación del grado de inflamación y del grado de fibrosis era más benigno. A los problemas de representatividad se suman los derivados de la subjetividad de la valoración¹⁵⁰.

Por otro lado, en los últimos años, otros índices han mostrado también una alta especificidad y sensibilidad para el diagnóstico de fibrosis significativa^{156, 164, 349, 350, 351, 352} y junto con la elastografía hepática²⁶⁵, se considera actualmente que son métodos útiles para la detección. La principal ventaja del NIHCED y de los otros métodos no invasivos es que debido a su sencillez se pueden repetir las veces que sea necesario. Algunos autores sugieren la combinación de varios índices como un método no invasivo de

diagnóstico^{184, 194}, si bien, a pesar de ello, la biopsia hepática sigue siendo necesaria en aquellos casos en que con los índices no invasivos no queda bien caracterizada el grado de fibrosis hepática para su total caracterización.

Castera et al.²⁰⁴ combinaron diferentes métodos no invasivos y vieron que cuando el resultado del FibroTest se combina con el de la elastografía de transición y los resultados son coincidentes, lo que sucede en un 70-80% de los pacientes, éstos convergen a su vez con los proporcionados por la biopsia hepática en un 84% de los pacientes en estadio F2, un 95% de los F3 y el 94% de los F4. Combinando estos dos métodos, FibroTest® y FibroScan®, la realización de la biopsia hepática se podría evitar en el 77% de los pacientes con fibrosis significativa.

Estos datos estarían en consonancia con las últimas recomendaciones de la EASL y de la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas en donde se indica que la biopsia hepática estaría indicada en los casos de discrepancia de los métodos no invasivos^{353, 354, 355}, que aunque consideran la biopsia el “gold standard” para evaluar la extensión de la enfermedad hepática en la hepatitis crónica C, aceptan los métodos no invasivos para evaluar la fibrosis en pacientes con hepatitis C crónica, reservando la biopsia hepática para casos dudosos o aquellos en los que otras causas de fibrosis podría ser probable, haciendo hincapié en que ningún método tiene una alta exactitud cuando es empleado en exclusividad, y que la aproximación más eficiente en el diagnóstico del estado de fibrosis hepática es la combinación de biomarcadores directos y el uso del FibroScan³⁵⁶.

Por otro lado, una gran ventaja del NIHCED respecto de otros índices no invasivos de valoración de la fibrosis hepática es que utiliza datos clínicos, analíticos y ecográficos fáciles de obtener con lo que como ya se ha dicho previamente no hay inconveniente en repetirlo de forma longitudinal en contra de otros métodos no invasivos como el FibroTest⁸⁸, es que las determinaciones que se han de realizar no son rutinarias, dado que es una fórmula matemática que combina cinco variables; bilirrubina total, GGT, haptoglobina, alfa 2-microglobulina y apolipoproteína A1.

Los resultados de nuestro estudio indican que todos los pacientes > 65 años de edad tienen una alta probabilidad de presentar fibrosis significativa, lo cual puede ser una limitación del método Sabadell's NIHCED, ya que todos los pacientes mayores de 60 años se consideran en riesgo de desarrollar cirrosis debido a que la propia edad mayor

de 60 años tiene un fuerte peso estadístico (13 puntos de un máximo de 76 puntos). Los estudios realizados previamente, avalarían esta conclusión, dado que uno de los principales factores que influirían en la progresión de la enfermedad, como un factor pronóstico importante de fibrosis significativa y cirrosis, es el tiempo de evolución, que obviamente, aumenta con la edad^{77, 108, 357, 358}, a que cuando se diagnostica a mayor edad presenta mayor virulencia o porque a más tiempo de evolución más posibilidades de evolución a fibrosis significativa. Hay estudios que confirman que la edad elevada de un donante de hígado es un riesgo significativo de recurrencia severa de hepatitis C en post-trasplantados^{359, 360}.

Una de las ventajas del NIHCED respecto de otros marcadores no invasivos es su facilidad de cálculo que permite realizarlo en la cabecera del enfermo sin necesidad de ningún ordenador ni calculadora. Por otro lado, al combinar datos demográficos y de laboratorio, pero también ecográficos es posible hacer una evaluación completa del paciente y detectar posibles complicaciones de la hepatitis crónica por VHC como puede ser el hepatocarcinoma o ascitis radiológica. En este sentido, en los últimos años se ha objetivado que el riesgo de hepatocarcinoma está también presente en los pacientes con fibrosis significativa aunque no hayan desarrollado todavía la cirrosis hepática, con lo que nuestro índice es útil al ser capaz de detectar con bastante fiabilidad la fibrosis significativa sirviendo como herramienta de cribaje de hepatocarcinoma al detectar fibrosis significativa. Vale la pena hacer notar que en 27% de los pacientes diagnosticados de novo de hepatocarcinoma en nuestro medio, se desconocía previamente que presentarían fibrosis significativa o cirrosis y fue la ecografía hepática la que aportó el diagnóstico para iniciar el tratamiento³⁶¹.

En el último año han surgido nuevos medicamentos muy eficaces para el tratamiento de la hepatitis crónica por VHC alcanzando tasas de respuesta virológica sostenida superior al 90%³⁵⁵ y que permitirá en un futuro evitar la progresión de la infección a cirrosis hepática o disminuir el número de complicaciones en aquellos afectados ya de cirrosis. No obstante, actualmente en nuestro país el acceso a estos medicamentos está restringido en pacientes mono infectados a la presencia de fibrosis significativa, con profesiones de riesgo o con deseo gestacional.

En nuestro medio la hepatitis crónica por VHC afecta al 2-3% de la población española. Eso significa que un seguimiento exhaustivo de todos los pacientes infectados por parte del especialista colapsaría la atención especializada en hepatología. Por otro

lado, hay un grupo amplio de pacientes asintomáticos y jóvenes con una vida laboral activa que no se controlan de forma periódica o lo realizan a través de su médico de familia. Otra de las ventajas de nuestro índice es que es una herramienta asequible para los médicos de familia (fácil de puntuar y de evaluar) que sirve para detección precoz de fibrosis significativa, que implicaría que el subgrupo de pacientes con fibrosis significativa sería el que tendría que ser derivado para control y tratamiento especializado.

Una de las limitaciones de nuestro estudio, pero que es extensible a todos los métodos no invasivos es que en general detectar con bastante exactitud los valores extremos, pero en los pacientes con valores intermedios ofrece sólo una información parcial sobre la fibrosis hepática siendo la biopsia hepática la prueba “gold standard”. Así nuestro método es más exacto en la detección de cirrosis hepática que en la de fibrosis significativa^{197, 198}.

Un inconveniente que puede presentar la elaboración y validación de un índice que valora datos ecográficos es el sesgo inter observador. En el Sabadell's NIHCED únicamente un radiólogo fue el que realizó todas las ecografías y evaluó todos los signos incluidos en las mismas. No obstante, creemos que son datos bastante sencillos de valorar por cualquier radiólogo, y por tanto, fácilmente exportable a otros centros.

Otra limitación de nuestro estudio sería la valoración de la anatomía patológica de las biopsias. Para obviar el sesgo interobservador, todas las biopsias han sido valoradas por la misma patóloga, empleando el índice Knodell para la clasificación del estado de fibrosis de las biopsias.

De acuerdo a los resultados de nuestro estudio podemos concluir que el índice NIHCED tiene una sensibilidad, especificidad y precisión diagnóstica buena para detectar fibrosis significativa en pacientes con hepatitis crónica por VHC.

VI. ESTUDIO II

6.- ESTUDIO II: VALIDACIÓN EXTERNA DE LOS ÍNDICES APRI Y FORNS PARA EL DIAGNÓSTICO DE CIRROSIS. EVALUACIÓN DE LA UTILIDAD DE LOS ÍNDICES NO INVASIVOS APRI, FORNS Y NIHCD PARA PREDECIR LA EVOLUCIÓN A CIRROSIS HEPÁTICA EN LOS PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C. FACTORES PRONÓSTICOS DE PROGRESIÓN DE LA CIRROSIS HEPÁTICA.

6.1.- MATERIAL Y MÉTODOS

6.1.1.- Selección de pacientes.

Se seleccionaron de forma prospectiva y consecutiva aquellos pacientes con hepatitis crónica por VHC evaluados en la Unidad de Hepatología del Hospital de Sabadell (Barcelona) y que se les había realizado una biopsia hepática desde Enero-1993 hasta Diciembre-2003 y que cumplían los criterios de inclusión. A los pacientes candidatos a participar en el estudio se les informó, bien las visitas de control habituales, o mediante una carta de presentación de estudio (**Anexo 4**).

A todos los pacientes se les repitió serologías para VHB y VIH, estudio de hemocromatosis (hierro, ferritina e IST), hepatitis autoinmune (ANAs, anticuerpos anti músculo liso), CBP (FA, AMAs), enfermedad de Wilson (ceruloplasmina) y déficit de alfa-antitripsina (niveles de antitripsina).

Los **criterios de inclusión** en la evaluación basal fueron los siguientes:

- Pacientes con hepatitis crónica por VHC que se hubiesen realizado la biopsia hepática en el periodo establecido y que se hubieran realizado todos los procedimientos previamente protocolizados; analítica completa para descartar la siguiente concomitante enfermedades: hemocromatosis (hierro, ferritina y hierro índice de saturación), hepatitis autoinmune (antinuclearpanel de anticuerpo o anticuerpo nuclear del músculo lisoprueba), cirrosis biliar primaria (fosfatasa alcalina y anticuerpos mitocondriales), la enfermedad de Wilson (ceruloplasmina), y la deficiencia de α -antitripsina (α -antitripsina niveles), ecografía completa con valoración de los parámetros predictivos de cirrosis hepática y la biopsia hepática en los tres meses posteriores.
- Sin evidencia de cirrosis hepática en la biopsia inicial.
- El consumo de alcohol < 30 g / día en hombres y < a 20 g / día en mujeres.
- No hay enfermedades concomitantes.
- No se hepatitis B o la coinfección por el VIH.

Durante la evaluación inicial, prospectivamente se habían registrado todos los parámetros necesarios para calcular las puntuaciones para los tres métodos no invasivos. El índice de NIHCED fue calculado de forma prospectiva durante la evaluación inicial. Sin embargo, las puntuaciones de APRI y Forns se calcularon retrospectivamente debido a que estos índices no se habían desarrollado y validado cuando se obtuvieron las biopsias basales.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Parc Tauli de Sabadell (Barcelona) y diseñado según las guías éticas de 1975 de la Declaración de Helsinki, revisado en 1983.

6.1.2.- Diseño del estudio.

El estudio se realizó de forma prospectiva entre Enero de 2008 hasta Septiembre de 2011 sobre una sobre una cohorte de pacientes con hepatitis

crónica por VHC. Los pacientes fueron evaluados en dos momentos de su evolución; en un momento basal y posteriormente de forma prospectiva.

a) Periodo basal.

Se revisó la historia clínica de todos los pacientes con hepatitis crónica por virus C a los que se les había realizado una biopsia hepática desde Enero-1993 hasta Diciembre-2003 y que cumplían los criterios de inclusión anteriormente descritos. A todos ellos se les había realizado historia clínica, exploración física, analítica y se les había calculado el índice NIHCED de forma prospectiva.

b) Periodo de seguimiento.

Todos los pacientes que incluían los criterios establecidos en el período basal (ver apartado “*selección de pacientes*”) se revisó la historia clínica. Se dieron las siguientes situaciones:

1. Habían recibido tratamiento antiviral y habían obtenido la respuesta viral sostenida y por tanto habían sido dados de alta de la Unidad de Hepatología.
2. Estaban en tratamiento antiviral activo.
3. Seguían controles por los médicos de Atención Primaria.
4. Habían evolucionado a cirrosis hepática detectándose en forma de descompensaciones específicas de la cirrosis hepática.
5. Seguían controles en nuestra Unidad de forma regular
6. Se había perdido el seguimiento o lo hacían en otro centro
7. Habían fallecido en este periodo ya fuese por complicaciones de la cirrosis o bien por otras enfermedades diferentes.

Los pacientes en los supuestos 1, 2, 6 y 7 fueron excluidos del estudio posterior.

c) Periodo de valoración prospectiva.

Todos los pacientes que cumplían los criterios de inclusión y ninguno de exclusión fueron citados a las consultas externas de la Unidad de Hepatología mediante el envío de una carta a su domicilio en donde se especificaba el motivo (**Anexo 4**). Una vez en la consulta externa, se les explico de forma pormenorizada los procedimientos del estudio y firmaron

el consentimiento informado (**Anexo 5**). A todos los que aceptaron, se les realizó una historia clínica exhaustiva, realización de una analítica general y una ECO doppler estandarizada.

d) Clasificación de la fibrosis según los métodos no invasivos

Los índices Forns, APRI y NIHCED fueron calculados en dos momentos:

1. Período basal. Realizado en el momento de la biopsia basal, el APRI y el índice Forns de forma retrospectiva (en el momento de la biopsia basal estos índices no habían sido publicados), y el índice NIHCED de forma prospectiva.
2. Período de valoración prospectiva. En este caso, los tres índices se calcularon de forma prospectiva.

Para ayudarnos en este proceso, creamos un Excel donde introducir las variables y conocer los resultados de todos los índices. **Fig. 29. (Anexo 1, 2, 3).**

De esta manera, disponíamos de dos valores de métodos no invasivos: la valoración basal y valoración prospectiva, con una diferencia entre las dos determinaciones de al menos 4 años.

Los pacientes fueron clasificados como “ausencia de fibrosis o fibrosis mínima” si el cálculo de los tres métodos no invasivos presentaban resultados concordantes con dicho resultado.

Los pacientes fueron clasificados como afectados de cirrosis hepática en caso de:

1. Durante el periodo de seguimiento (entre la primera biopsia y la evaluación prospectiva actual) habían presentado alguna complicación específica de la cirrosis hepática como ascitis, hemorragia digestiva alta o encefalopatía hepática o si en la endoscopia digestiva había varices esofágicas, signo indicativo de hipertensión portal y cirrosis hepática.
2. Si los valores de los índices NIHCED y APRI indicaban (ambos) cirrosis hepática (no se consideró el Forns porque en la

validación que realizó no definió el criterio de cirrosis, solo de fibrosis significativa).

Cuando los resultados de los índices fueron discordantes o indeterminados se le propuso al paciente la realización de una segunda biopsia hepática. El intervalo máximo entre la realización de la biopsia y los resultados de laboratorio y ecográficos empleados para realizar los índices fue de máximo 3 meses.

6.1.3.- Metodología clínica basal.

A todos los pacientes seleccionados que aceptaron participar en el estudio, se les realizó una historia clínica exhaustiva en donde se determinó la presencia de enfermedades concomitantes: diabetes mellitus, dislipemia, HTA, así como medicación habitual. Se recogió datos demográficos, antecedentes patológicos y epidemiológicos, y la posible presencia de descompensaciones relacionadas con evolución a cirrosis; además, se realizó una exploración física por aparatos.
Anexo 6.

6.1.4.- Metodología de laboratorio

A todos los pacientes se les realizó una analítica y serologías completas.

c) Determinaciones analíticas

Se realizaron las siguientes determinaciones: hemograma completo con recuento de leucocitos totales con el porcentaje de neutrófilos y linfocitos, hemoglobina, volumen corpuscular medio, recuento de plaquetas, tiempo de protrombina (ratio), albúmina (mg/dL), bilirrubina total y directa (U/L), creatinina (mg/dL), urea (mg/dL), FA (U/L), GGT (U/L), ALT (U/L); AST (U/L), AST/ALT ratio y gammaglobulinas.

Se solicitó el estudio de Autoanticuerpos no organoespecíficos (ANOEs). Se incluyeron los siguientes: Antinucleares (ANA), Antimitocondriales (AMA), Anti-músculo liso (AML), Antimicrosomales hepato-renales (anti-LKM-1) por técnicas de inmunofluorescencia indirecta sobre triple tejido.

Las crioglobulinas se determinaron mediante la extensión a 37° C, con separación del suero y mantenimiento a 4° C durante 5 días. Si eran positivas, se centrifugaban a 4500 rpm a 4° C durante 30 minutos para separación del crioprecipitado que tras 4 lavados con PBS frío, se cuantificaban y estudia por inmunoelectroforesis.

d) Determinaciones virológicas

Se determinó la detección del RNA-VHC. En nuestro hospital, la técnica empleada a partir de 2004 es la prueba Cobas Ampliprep/Cobas Taqman HCV (Roche Diagnostics), que es una prueba de amplificación in vitro de ácidos nucleicos a tiempo real para la determinación cuantitativa del ARN del VHC en plasma o suero (el instrumento Cobas Ampliprep para el procesamiento automatizado de la muestra y el analizador Cobas Taqman para la amplificación y posterior detección del ARN automatizadas).

Se basa en tres procesos principales: preparación de la muestra para extraer el ARN del VHC; transcripción reversa del ARN objetivo para generar ADN complementario (ADNc); y amplificación mediante PCR del ADNc objetivo y detección simultánea (PCR en tiempo real) de una sonda de detección oligonucleótida doblemente marcada y escindida específica del objetivo.

La prueba Cobas Ampliprep/Cobas Taqman permite la preparación automatizada de la muestra (aislamiento del ARN), seguido de una transcripción inversa, la amplificación mediante PCR y la detección del ARN también automatizadas. Determina concentraciones superiores a 15 UI/mL e inferiores a 69 millones UI/mL.

En aquellos pacientes que no tenían determinado su genotipo viral, se les determinó. El genotipo fue realizado con la técnica de INNO-LiPA HCV II (Siemens Healthcare Diagnostics).

6.1.5.- Metodología de la ecografía hepática

A todos los pacientes se realizó una ecografía-doppler hepática estudiando las 3 variables ecográficas necesarias para calcular el índice NIHCED, y que son:

1. Hipertrofia del lóbulo caudado (diámetro > 4 cm)
2. Atrofia del lóbulo hepático derecho (diámetro longitudinal < 9 cm)
3. Esplenomegalia (>13cm)

El equipo usado del 2003 al 2005 fue el Toshiba Aplio 80. Desde 2005 al 2010, Toshiba Aplio 80 XV, y a partir del año 2010, el equipo Toshiba Aplio XG.

Todas las pruebas fueron realizadas por el mismo radiólogo del Estudio 1, del centro UDIAT del Hospital de Sabadell.

6.1.6.- Metodología de los índices predictivos de fibrosis hepática

Como se ha comentado previamente, a todos los pacientes se realizaron los índices APRI, Forns y NIHCED en el período basal (retrospectivo) y en el período de valoración prospectiva (momento actual), con una diferencia mínima entre las dos veces de 4 años (**Fig. 28. Anexo 2, 3, 4**).

6.1.7.- Metodología de la biopsia hepática

Para la realización de las biopsias hepáticas fueron realizadas guiada por ecografía empleando una aguja trucut automática centimetrada del 16 G (ACNÔ, MediTech. Gainsville, EEUU).

Las muestras fueron fijadas y teñidas con la misma metodología del Estudio 1 (pag. 115), y fueron revisadas por la misma patóloga que en el Estudio 1, la cual desconocía la historia clínica y los resultados de laboratorio de los

pacientes. El grado de fibrosis fue evaluada mediante la escala de Knodell y METAVIR.

6.1.8.- Metodología estadística

El análisis estadístico se realizó con el programa SAS. La significancia estadística se consideró con $p < 0.05$.

- Análisis Descriptivo

Las características de los pacientes se expresaron como media \pm SD o mediana y rango intercuartil, cuando la distribución fue asimétrica. **Anexo 7.**

Se obtuvieron tablas resumen para todas las variables almacenadas siguiendo el siguiente procedimiento:

- * Variables cualitativas: Tabla de frecuencias con las frecuencias relativas y absolutas. Representación gráfica mediante gráficos de barras o de sectores.
- * Variables cuantitativas: Tabla con los estadísticos de resumen: N, número de datos faltantes (NMiss), Media, Mediana, SD y Valores Mínimo y Máximo.

Se han descrito las medias de la edad, IMC y el tiempo entre la primera y la segunda evaluación. El tipo de fármacos basales, el genotipo, y el tipo de fármaco usado como tratamiento contra la hepatitis C y su respuesta. Además, se han descritos las características de los hallazgos ecográficos y de las biopsias, así como el número de los pacientes a los que se les realizaron y los que no. Se describió la fibrosis basal y la de control (tanto según el índice Knodell como METAVIR), y en especial, la evolución de la fibrosis en aquellos pacientes en que se repitió la biopsia.

- **Análisis Bivariado**

La variable de respuesta principal es Fibrosis METAVIR (con valores 0, 1, 2, 3, 4). Se consideraron los valores previos y los valores actuales por separado. Para el análisis de los valores previos se han utilizado todos los pacientes. Para el análisis de los valores actuales se han utilizado los pacientes que han aceptado hacer la biopsia o no necesitaban hacerla.

Se calcularon los factores predictivos de cirrosis usando el índice METAVIR con el modelos F0→3 vs F4 (cirrosis).

Se ajustaron los modelos de regresión logística ordinales bivariantes considerando como variables explicativas cada una de las variables por separado. Se han calculado Odds Ratio (OR) con el intervalo de confianza del 95%.

Para las variables cualitativas se empleó el test de χ^2 de Pearson, su odds ratio y del IC al 95%, y se han representado a través de gráficos de barras. Para las variables cuantitativas se exploró si las variables cuantitativas estudiadas cumplían con el criterio de distribución normal mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. Cuando cumplían la normalidad se calculaba la media y desviación estándar (DE) se aplicaba el test de Student y se representaba mediante histogramas. En caso de que no cumpliera la normalidad, empleamos el test de Mann-Whitney para dos muestras independientes, y su representación a través de box plot. Además, se han calculado la R de Pearson y la correlación de Spearman, según fueran variables paramétricas o no paramétricas, respectivamente.

- **Análisis Multivariante**

Se realizó regresión logística con los métodos “adelante razón de verosimilitud –RV–”, “adelante Wald”, “atrás RV”, “atrás Wald” e “Introducir”, usando aquella con mejor R^2 de Cox y Snell y R^2 de Nagelkerke, calculando posteriormente su curva ROC.

El estudio se hizo con variables continuas, incluso para los índices Forns, APRI y NIHCED, pese a que en los dos primeros hay valores intermedios entre los dos puntos de corte, en los que habría pacientes inclasificados (Forns <4.21 y >6.9 para F01 vs F34; APRI ≤ 1 y >2 para cirrosis), y que en el caso del índice NIHCED, se han admitido como puntos de corte para fibrosis significativa >6 , y para cirrosis, punto de corte ≥ 22 .

Las variables respuesta se han analizado como variables dicotómicas: F0F1F2F3 vs F4. Por otro lado, los tres modelos (índice Forns, APRI y NIHCED) fueron ajustados para predecir la evolución de ausencia de fibrosis (F0) a cirrosis (F4).

El poder predictivo de cada índice se obtuvo mediante el cálculo de sus respectivas curvas ROC, que posteriormente fueron representadas en el mismo gráfico, y se calculó el AUROC con un intervalo de confianza de 95% para cada curva. Además, se consideraron los cut-offs que maximizaban la sensibilidad y especificidad de cada uno.

- **Árboles de decisión**

Se realizó estudio de los índices Forns, APRI y NICHED en el diagnóstico de cirrosis hepática mediante la realización de árboles de decisión.

Se emplearon como variables, los índices de control como variables continuas y la variable fibrosis de control (METAVIR), bien obtenida mediante biopsia, o bien porque se trate de casos que habían desarrollado cirrosis clínica, por tanto F4. Se han empleado los modelos que clasificaban un mayor número de pacientes son correctamente clasificados.

6.2.- RESULTADOS

A. ANÁLISIS UNIVARIADO

6.2.1.- Descripción general de la muestra. Características epidemiológicas y clínicas.

Estudio prospectivo realizado entre Enero de 2008 hasta Septiembre de 2011. El seguimiento tuvo un mínimo de 4.08 años y un máximos de 16.82 años, con una media de 10.95 años. **Fig. 33.**

a) Periodo basal.

Un total de 514 pacientes con infección por VHC y biopsia hepática basal realizada entre Enero de 1993 y Diciembre de 2003 fueron valorados para su inclusión en el estudio. De ellos, 137 pacientes fueron excluidos al no cumplir los criterios de inclusión o presentar criterios de exclusión, quedando un total de 377.

b) Periodo de seguimiento.

Se revisaron las historias clínicas de los 377 pacientes restantes, 87 fueron excluidos porque habían recibido tratamiento antiviral y estaban en RVS, porque estaban en tratamiento antiviral activo o bien, porque no se pudo contactar con ellos, quedando un total de 290 pacientes.

c) Periodo de valoración prospectiva.

Finalmente, en el estudio se incluyeron 290, de los cuales, 142 (48.97%) pacientes se les repitió la biopsia hepática y a 148 (51.03%) pacientes no se realizó biopsia por diferentes motivos:

- 33 pacientes no aceptaron biopsia
- 9 pacientes con enfermedad concomitante o senectud
- 17 pacientes sin fibrosis significativa por dos índices (APRI y NIHCED)
- 14 pacientes con cirrosis por los tres índices
- 29 pacientes con clínica de cirrosis
- 46 pacientes éxitus, bien en período entre la biopsia basal y el inicio del estudio, o bien durante la fase de valoración prospectiva, algunos de ellos con cirrosis establecida.

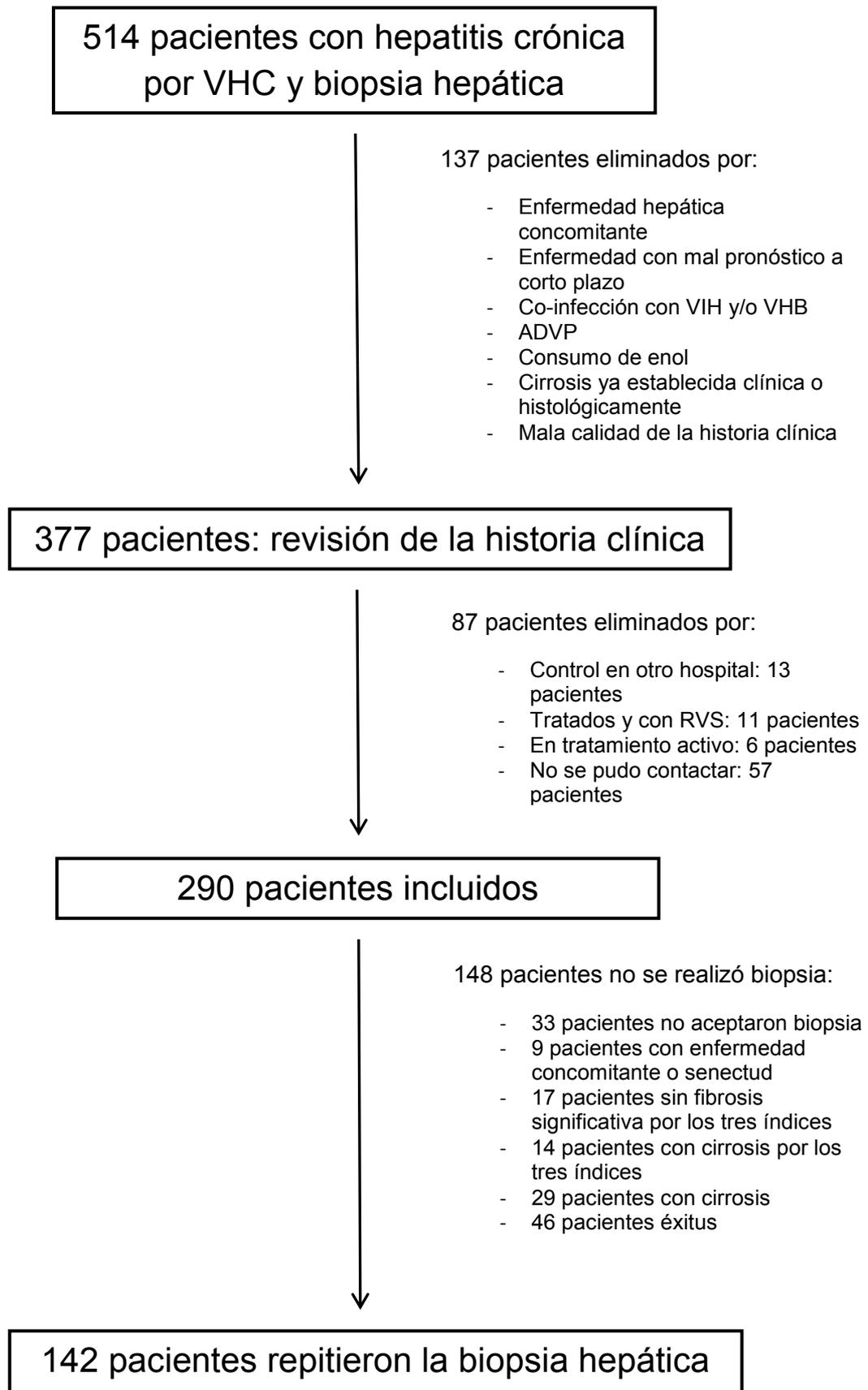


Fig. 33: Pacientes incluidos en el Estudio 2

Los 290 pacientes finalmente reclutados pertenecían a tres grupos diferentes (**Fig. 34**):

1. Pacientes que desarrollaron complicaciones específicas de cirrosis hepática entre el momento de su primera biopsia y el inicio del estudio, N = 29 (10%)
2. Pacientes con hepatitis crónica por VHC (N = 213; 73.45%), algunos de ellos controlados en nuestra unidad (N = 108; 50.70%), y pacientes a los que se les había perdido el control y con los que pudimos contactar y aceptaron participar en el estudio (N = 105; 49.3%). De estos 105 pacientes con los que pudimos contactar, durante el estudio, a algunos de ellos se les diagnosticó de cirrosis hepática (N = 15; 14.29% sobre los 105)
3. Pacientes que habían sido éxitus (N total = 46; 15.9%). Estaba formado por dos grupos: aquellos que fallecieron entre la primera biopsia y el inicio del estudio (N = 35; 76.01%), y los que fallecieron durante el período de recogida de datos, 11 pacientes (30.56%).

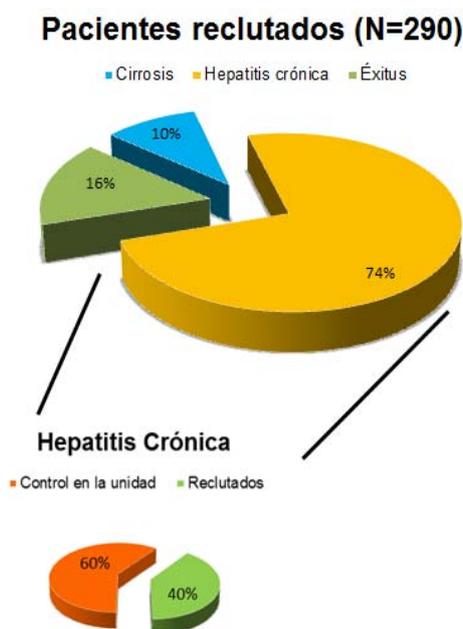
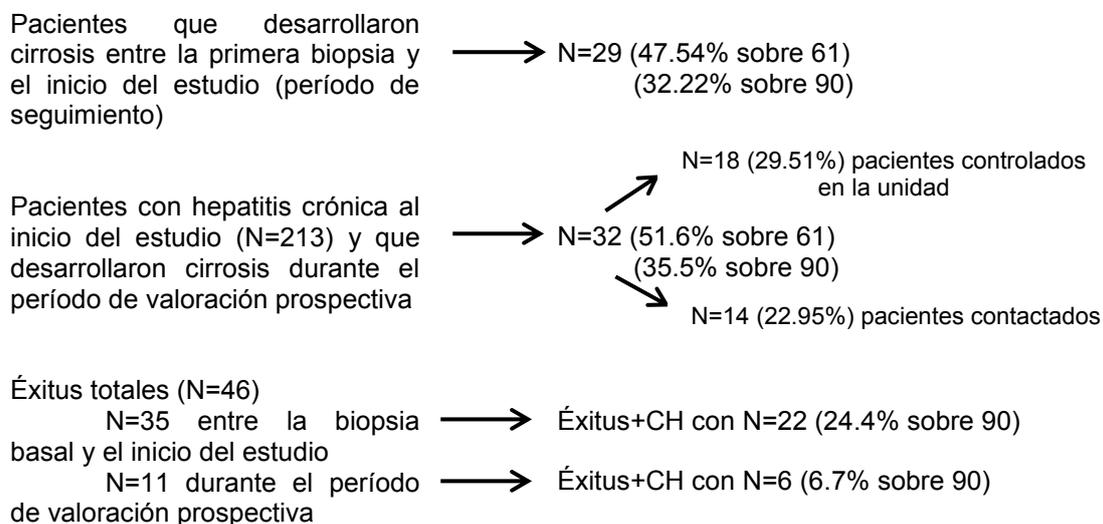


Fig. 34: Pacientes reclutados (N=290)

Al final del estudio, el número de pacientes con cirrosis era de 61 sobre 290 (21.03%), de los cuales 29 (47.54%) eran pacientes que desarrollaron CH entre su primera biopsia y el inicio del estudio, diagnosticada a raíz de alguna descompensación específica de la cirrosis o por la presencia de varices esofágicas en la endoscopia. De los 32 pacientes restantes que desarrollaron cirrosis, 18 (29.51% sobre los 61 pacientes) fueron diagnosticados de cirrosis hepática durante el período de recogida de datos, siendo controlados en nuestra Unidad, y 14 pacientes (22.95%) no seguían control en la Unidad y formaban parte de los pacientes con los que pudimos contactar. La tasa de incidencia de cirrosis fue de 2.01 nuevos casos por cada 100 pacientes por año de seguimiento.

A ellos se añaden 6 pacientes que desarrollaron CH durante el estudio y que además fueron éxitus en el mismo período, y 22 pacientes que habían desarrollado cirrosis y habían sido éxitus entre su primera biopsia y el inicio del estudio. Finalmente, si incluimos los pacientes fallecidos, el grupo de cirróticos total fue de 90 (31.03% sobre 290 totales). La tasa de incidencia de éxitus fue de 1.52 por cada 100 pacientes por año de seguimiento.

<u>Total de cirróticos vivos al final del estudio:</u> 61 pacientes (sobre 290) (21.03%)
<u>Tasa de incidencia de cirrosis:</u> 2.01 nuevos casos por cada 100 pacientes/año de seguimiento
<u>Total de cirróticos (vivos y éxitus):</u> 90 (31.03% sobre 290 totales).
<u>Tasa de incidencia de éxitus:</u> 1.52 por cada 100 pacientes por año de seguimiento



De los 290 pacientes, 147 (50.7%) pacientes eran mujeres. La edad media fue de 59.4 años \pm 13.14 (rango de edad 23-89 años). De los 290 pacientes, se pudo volver a realizar el estudio analítico y ecográfico en 250, ya que 40 pacientes fueron éxitos: 35 pacientes entre la biopsia basal y el inicio del estudio y 5 pacientes durante el estudio sin que pudiéramos incluirlos antes del fallecimiento.

En las **Fig. 35 y Fig. 36** se puede ver las variables estudiadas, cuantitativas y cualitativas, con su media \pm desviación estándar (DE) y el rango.

Variable	N	Media	Desviación estándar	Rango
Edad (años)	250	59.4	13.14	23-85
Peso (Kg)	194	72.87	14.25	45-176
IMC	191	27.22	4.41	18.49-58.13
TP inicial	290	1.03	0.075	0.9-1.5
TP control	250	1.04	0.12	0.86-1.84
INR control	249	1.04	0.14	0.8-2.05
Plaquetas previas (x 10 ⁹)	290	189.32	61.07	37-406
Plaquetas control (x 10 ⁹)	250	178.45	69.44	31-456
AST inicial	290	71.93	53.67	16-490
AST control	250	66.98	48.41	14-420
ALT inicial	290	107.38	78.322	21-592
ALT control	250	79.87	55.25	13-431
AST/ALT inicial	290	0.72	0.28	0.29-2.64
AST/ALP control	250	0.9	0.35	0.42-2.72
Colesterol inicial	290	180	35.1	75-313
Colesterol control	250	169.89	35.51	83-265
CV inicial	140	767753.25	1227711.82	1190-12335356
CV control	232	6967446.72	8269508.48	501-43912332
Glucosa inicial	289	104.42	35.54	63-35.54
Glucosa control	250	118.52	48.88	71-48.88
HOMA control	218	3.734	2.81	0.25-21.1

Fig. 35: Variables cuantitativas basales

Variable	N total	N	%
<u>Sexo (Hombre/Mujer)</u>	290	143/147	49,3/50,7
<u>Enfermedades concomitantes</u>			
HTA	290	92	31,7
DM	290	47	16,2
DLP	290	20	6,9
<u>Antecedentes epidemiológicos</u>			
Transfusión	290	124	42,8
ExADVP	290	11	3,8
Hepatitis aguda	290	19	6,6
<u>Hábito enólico (<30 g/día ♂/<20 g/día ♀)</u>			
Enol activo	289	25	8,6
Ex enol	290	48	16,6
<u>Hábito tabáquico</u>			
Fumador activo	288	70	24,1
Ex fumador	282	66	22,8
<u>Hábito farmacológico (N pacientes con tratamiento=154)</u>			
Antihipertensivos	290	91	31,4
Antidiabéticos	290	32	11
Insulina	290	13	4,5
Estatinas	290	10	3,4
Corticoides	290	6	2,1
Inmunosupresores	290	2	0,7
<u>Tipos Genotipo</u>			
	290	258	89
1ª ó 1b	290	226	77,9
2	290	10	3,4
3	290	9	3,1
4ª ó 4c	290	13	4,5
<u>Tratamiento VHC</u>			
Hicieron tratamiento	290	168	57,9
IFN	168	81	27,9
IFN+Riv	168	54	18,6
IFNp+Riv	168	59	20,3
Un tratamiento	168	143	85,12
Dos tratamientos	168	24	14,29
Tres tratamientos	168	1	0,59
<u>Respuesta al tratamiento</u>			
	290	171	59
No respuesta		111	38,3
Recidiva post-tratamiento		33	11,4
Contraindicación		1	0,3
Negativa a realizar tratamiento		3	1
Abandono por complicaciones		23	7,9

Fig. 36: Variables cualitativas basales

La media de edad de estos 250 pacientes en el momento basal fue de 48.98 años \pm 12.57, y el grupo de edad más frecuente fue el comprendido entre los 50-59 años (31.7%). En la evaluación prospectiva (N=230 pacientes a los que se les pudo evaluar su estado de fibrosis, **Fig. 44**), la edad media fue de 58.68 \pm 12.78, y el grupo de edad más frecuente fue el comprendido entre los 60-69 años (24.8%) **Fig.37**.

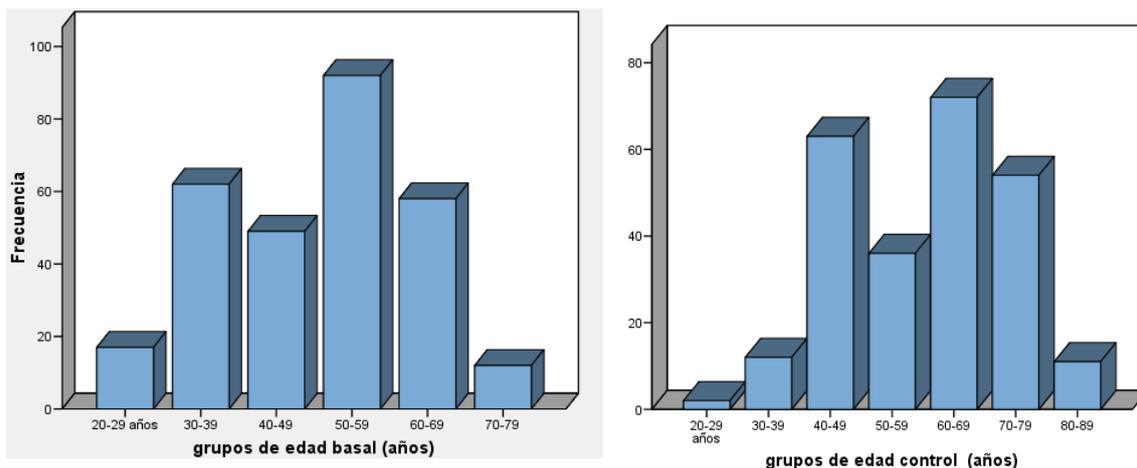


Fig. 37: Frecuencias por grupos de edad

La media de tiempo (años) entre la biopsia basal y la segunda (del estudio) fue de 10.95 años (DE 2.95 años) con un mínimo de 4.08 años y máximo de 16.82 años (N=250). La última biopsia se realizó el 27 de noviembre de 2013. **Fig. 38**.

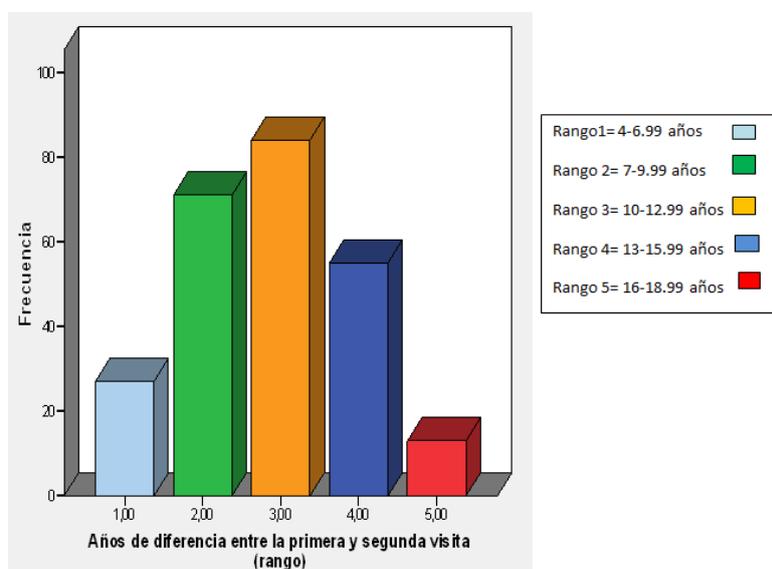


Fig. 38: Años de diferencia entre la primera y segunda visita (rango) (N=250)

La media del IMC fue de 72.87 (N=191), con IMC normal en el 29.8% de los pacientes (57 pacientes), sobrepeso en el 50.8% (97 pacientes) y obesidad en 19.4% (37 pacientes). El 59% de los pacientes (91 pacientes) tomaban tratamiento antihipertensivo, seguido de un 11% (32 pacientes) en tratamiento con antidiabéticos orales. **Fig. 39.**

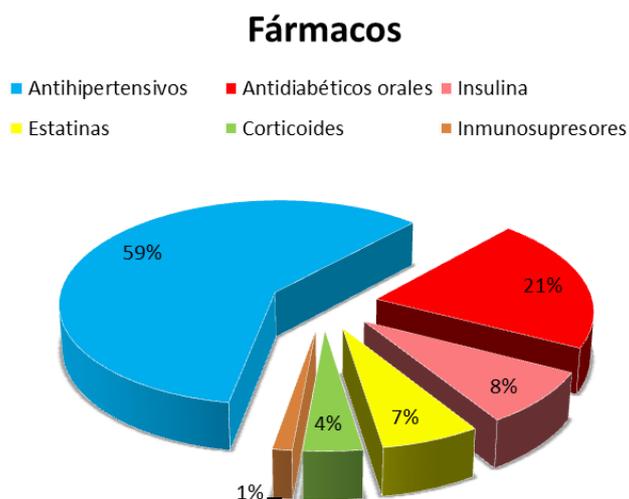


Fig. 39: Tratamiento habitual (N=154)

Se pudo conocer el genotipo en 258 pacientes (89%) de los 290. El genotipo más frecuente fue el genotipo 1a/1b con 226 pacientes (77.9%). **Fig. 40.**

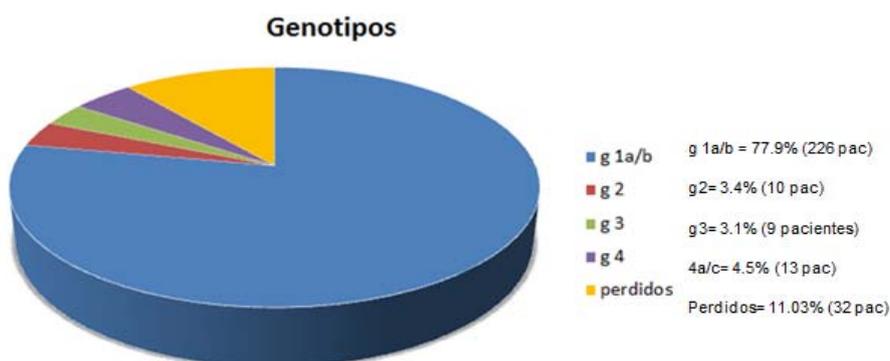


Fig. 40: Frecuencia de los genotipos de VHC

De los 290 pacientes, 168 (57.9%) habían realizado tratamiento antiviral sin que respuesta al mismo. El tratamiento más empleado fue el IFN con un 27.9% (81 pacientes), seguido de IFNp+Riv con un 20.3% (59 pacientes), y por IFN+Riv con 18.6% (54 pacientes). El 85.12% (143 pacientes) de los pacientes que recibieron

tratamiento sólo realizaron 1 tratamiento, el 14.3% (24 pacientes) recibieron 2 tratamientos, y el 0.6% (1 paciente) recibió las tres pautas de tratamiento. **Fig. 41.**

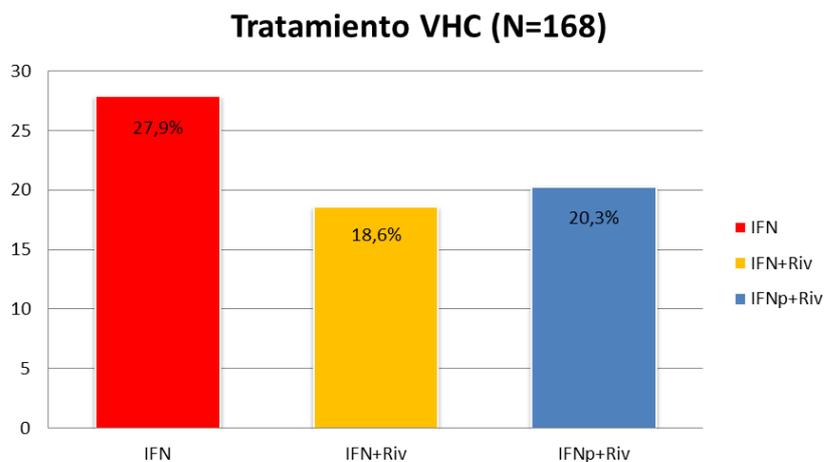


Fig. 41: Frecuencia de los tratamientos (N=168)

De los pacientes tratados, el 57.9% o bien no respondieron o bien el tratamiento fue suspendido. El 38.3% (112 pacientes) no respondieron al tratamiento, y el 11.4% (33 pacientes) recidivaron. **Fig. 42.**



Fig. 42: Respuesta al tratamiento y porqué no se realizó tratamiento (N=171)

De los 290 pacientes, se consideró el estado de fibrosis de control en 230 pacientes (**Fig. 44**): 142 pacientes (49%) a los que realizamos la biopsia; 17 pacientes (5.9%) que tenían los tres índices negativos para fibrosis significativa; 14 pacientes (4.8%) con los tres índices positivos para cirrosis; 29 pacientes (10%) con cirrosis conocida al haber desarrollado clínica de la misma; y 28 pacientes (9.65%) que fueron éxitus, de ellos, 22 pacientes (7.6%) que fueron éxitus con cirrosis conocida previo al inicio del estudio y otros 6 pacientes (2.1%) que desarrollaron cirrosis y fueron éxitus durante el período de estudio. **Fig. 43**.

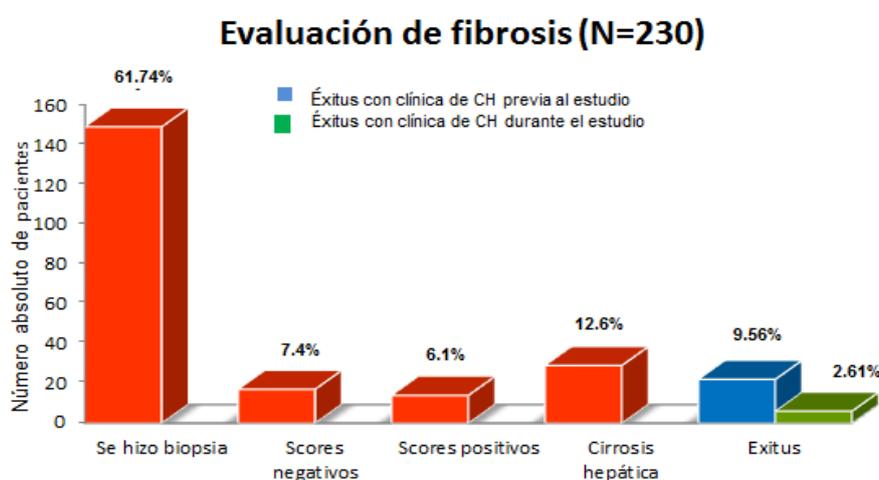


Fig. 43: Pacientes evaluados (N=230)

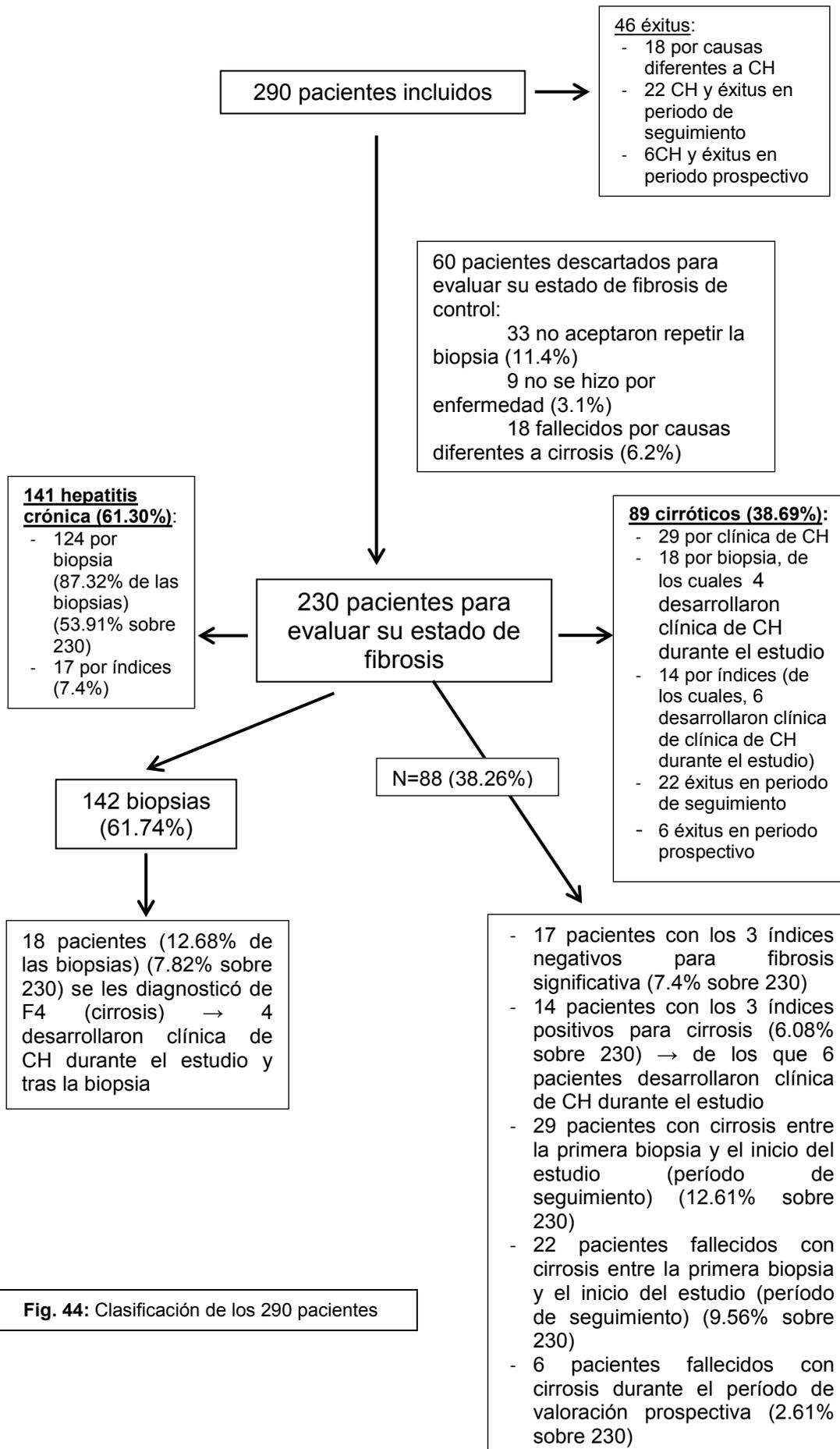


Fig. 44: Clasificación de los 290 pacientes

De los 290 totales evaluados, a 60 pacientes no entraron el estudio, dado que no pudimos determinarles los índices invasivos o hacerles la biopsia de control. De los 33 pacientes (11%) que no aceptaron repetir la biopsia, la ratio ♂:♀ fue 19:14 y con una media de edad de 51 años \pm 15.27 (rango 28 y 83 años). La media en años entre la biopsia basal y el control del estudio fue de 11.73 años \pm 3.27 (rango entre 4.39 y 16.78 años), con índice METAVIR en 21 (63.7%) era FoF1 y 12 pacientes (36.4%) F \geq 2. El genotipo más frecuente fue el 1a/b con un 87.9% (29 pacientes). El 48.5% (16 pacientes) recibieron tratamiento, de los cuales, 11 pacientes (33.3%) no respondieron, 3 pacientes (9.1%) recidivaron y 1 paciente abandonó por complicaciones asociadas al mismo.

En el resto de los 230 pacientes pudimos hacerles el control del estado de fibrosis a través de los índices predictivos, y en caso necesario, la biopsia hepática. Fueron clasificados de la siguiente manera:

1. “Ausencia de fibrosis significativa o fibrosis mínima” dado que los tres índices invasivos eran concordantes para ello, por lo que no fue necesario realizar biopsia control, N=17 (7.4% sobre 230). La ratio ♂:♀ fue de 5:12, con una media de edad de 42.6 años \pm 5.6 con rango entre 34 y 55 años. La media en años entre la biopsia basal y el control del estudio es de 10 años \pm 1.9 (rango 6.82-13.78). Ningún paciente presentaba hipertensión, diabetes o dislipemia. El genotipo más frecuente fue el 1a/b con un 82.4% (14 pacientes), 2 pacientes (11.8%) genotipo 3 y 1 paciente del que desconocemos el genotipo.

Sólo 11 pacientes recibieron tratamiento, de los cuales, 7 pacientes (41.2%) no hubo respuesta, en 3 pacientes (17.6%) hubo recidiva y 1 paciente abandonó el tratamiento por complicaciones asociadas al mismo. En la biopsia basal (METAVIR) la fibrosis era F0 en 8 pacientes (47.1%) y F1 en 9 pacientes (52.9%).

2. Clasificados como cirróticos (N=89; 38.69%). **Fig. 45.** En este caso, el diagnóstico de cirrosis se hizo a través de cuatro formas:

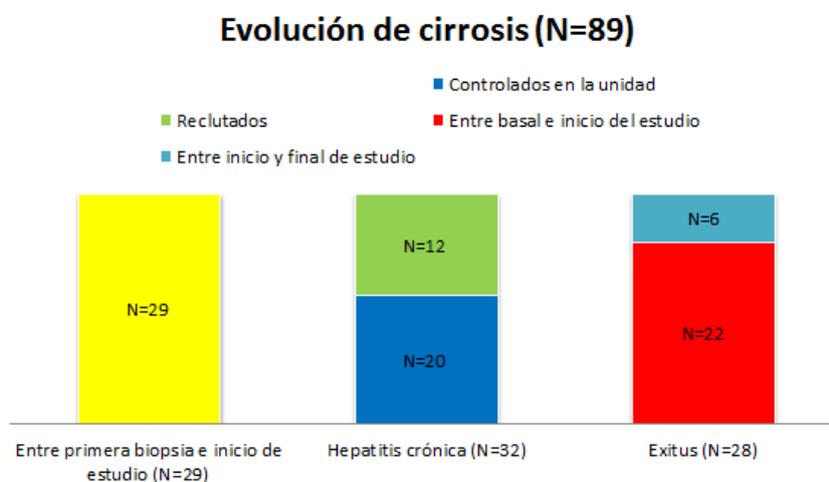


Fig. 45: Pacientes que evolucionan a cirrosis (N=89)

- a) Pacientes que desarrollaron clínica de cirrosis en el período de seguimiento. Con un total de 29 pacientes (12.61%), y excepto 2 pacientes que no seguían controles en ningún centro, el resto seguían controles en la Unidad de Hepatología. La ratio ♂:♀ era 14:15, y la media de edad fue de 67.41 años \pm 9.5 años (rango 43-84). El tiempo entre la primera biopsia y el control del estudio fue de 10.66 años \pm 2.72 años (rango 5.6-16.6 años). De los 29 pacientes, 14 habían sido transfundidos, 2 eran ex-ADVP y 5 pacientes tenían antecedentes de hepatitis aguda.

El 44.8% eran hipertensos, el 20.7% eran diabéticos, y el 6.9% dislipémicos. De ellos, 3 pacientes (10.34%) eran hipertensos y diabéticos, y 1 paciente (3.45%) era diabético y dislipémico. Un total de 24 pacientes (82.8%) eran genotipo 1a/b, 2 pacientes (6.9%) genotipo 2, otros 2 pacientes (6.9%) son genotipo 3, y 1 paciente (3.45%) era genotipo 4. De los 29 pacientes, 20 (69%) recibieron tratamiento, y 5 de ellos recibieron dos. Un total de 13 pacientes no respondieron, 2 pacientes recidivaron, y 5 pacientes abandonaron por complicaciones.

De los 29 pacientes, 27 pacientes (93.1%) desarrollaron varices esofágicas, y de ellos, 8 pacientes presentaron al menos otra complicación. Además, 5 pacientes (17.2%) desarrollaron

hepatocarcinoma, 4 (13.8%) ascitis, 2 (6.9%) hemorragia digestiva alta, y 1 (3.4%) encefalopatía hepática. **Fig. 46**

Descompensación	APRI basal	Forns Basal	NIHCED basal	Fibrosis METAVIR basal
Varices	0.54	7.58	46	3
Varices	1.23	9.74	36	3
Varices	1.26	9.32	51	3
Varices	1.36	8.41	23	3
Varices	1.37	9.4	33	3
Varices	1.54	8.56	20	1
Varices + Ascitis	1.70	9.88	61	3
Varices	1.88	9.05	39	3
CHC	1.89	8.95	19	1
Varices + CHC + Ascitis	2.06	10.21	39	3
Varices + Ascitis	2.15	9.18	35	3
Varices + CHC	2.16	11.44	51	3
Varices	2.19	7.76	36	3
Varices + CHC	2.20	10.16	55	3
Ascitis + Encefalopatía	2.27	8.24	48	1
Varices	2.30	8.33	39	3
Varices + HDA	2.69	9.2	45	3
Varices	3.31	13.42	51	3
Varices	3.32	8.04	59	3
Varices	3.66	9.76	42	3
Varices	4.14	9.09	45	1
Varices	5.26	10.39	38	3
Varices + CHC	6.3	8.54	61	3
Varices	6.68	11.37	45	3
Varices	7.11	9.04	55	3
Varices	7.38	8.77	28	3
Varices + HDA	8.36	11.66	55	3
Varices	9.87	9.16	45	1
Varices	9.96	11.98	70	3

Fig. 46: Relación de los índices y el desarrollo de complicaciones asociadas a cirrosis

- b) Mediante biopsia. Un total de 18 pacientes en la segunda biopsia estaban en fase de cirrosis (F4). De ellos, 10 pacientes mantenían controles en la Unidad de Hepatología y 8 habían sido reclutados en el período de seguimiento. De los 18 pacientes, 4 pacientes desarrollaron clínica de CH durante el estudio: 3 pacientes con CHC (15,8%) y 1 paciente (5,26%) con varices esofágicas.

La ratio ♂:♀ era 11:8, y la media de edad fue de 66.37 años ±11 años (rango 41-82). El tiempo entre la primera y la segunda biopsia

fue de 10.95 años \pm 3,3 años, con un rango entre 4,08 y 16,38 años. De los 18 pacientes, 11 habían sido transfundidos.

El 52.6% eran hipertensos, el 36,8% eran diabéticos, y el 2% dislipémicos. De ellos, 5 pacientes (26.32%) eran hipertensos y diabéticos, y 2 pacientes (10.53%) eran hipertensos, diabéticos y dislipémicos.

Un total de 16 pacientes (88.89%) eran genotipo 1a/b, y 2 pacientes (11,11%) eran genotipo 2. De los 18 pacientes, 11 recibieron tratamiento, y 3 de ellos recibieron 2 tratamientos. Unos 8 pacientes (42.1%) no respondieron, 2 pacientes (10,5%) recidivaron, y 1 paciente (5,3%) abandonó por complicaciones.

- c) Mediante los 2 índices predictivos positivos para cirrosis. Con un total de 14 pacientes, de los cuales 6 desarrollaron clínica de CH durante el período de valoración prospectiva. De los 14 pacientes, 4 (28.57%) fueron reclutados para el estudio, y los otros 10 ya seguían controles en nuestra Unidad.

La media de edad de los 14 pacientes era de 68.14 \pm 10.4 años (rango 46-79). La ratio ♂:♀ fue de 5:9. De ellos, 7 pacientes eran hipertensos, 3 diabéticos y 2 dislipémicos, y 1 paciente presentaba las tres enfermedades y estaba en tratamiento con insulina. Cuatro pacientes tienen antecedentes de transfusión sanguínea y 2 pacientes de hepatitis aguda.

Todos eran genotipo 1a/b; 9 pacientes hicieron tratamiento: 5 con IFN, 4 con IFN+Riv y otros 4 con IFN ρ +Riv, y 1 paciente recibió los 3 tratamientos. De los 9 pacientes, 6 no tuvieron respuesta, 1 paciente recidivó y otros 2 pacientes abandonaron el tratamiento por complicaciones (entre ellos, el paciente que había recibido los tres tratamientos).

- d) Éxitus por causas asociadas a cirrosis. Un total de 28 pacientes (12.17%) fallecieron a consecuencia de complicaciones asociadas de cirrosis. De ellos, 22 pacientes (9.56%) fueron éxitus en el período de seguimiento, y 6 pacientes (2.6%) durante el período de valoración prospectiva.

La ratio ♂:♀ era 16:12. La media de edad fue de 71.96 años \pm 10.42 (rango 41-84). El 42.9% (12 pacientes) habían sido transfundidos. De los 46 pacientes, 11 (39.3%) eran hipertensos, 10 pacientes (35.7%) diabéticos y 5 pacientes (17.9%) dislipémicos, y 1 paciente presentaba las tres patologías.

Sólo conocemos el genotipo en 10 pacientes (35.7%), los cuales eran todos genotipo 1a/b. Recibieron tratamiento 11 pacientes, 10 con IFN y 3 con IFN+Riv, 7 pacientes sin respuesta, 1 con recidiva post-tratamiento y 3 abandonaron por complicaciones.

Las complicaciones asociadas a la cirrosis que desarrollaron se pueden ver en la **Fig. 47**. Al menos 8 pacientes presentaron 2 complicaciones, 2 pacientes presentaron 3 complicaciones, y 3 pacientes presentaron 4 complicaciones.

Complicaciones asociadas a cirrosis en pacientes éxitus (N=28)

■ Ascitis ■ HDA ■ Encefalopatía hepática ■ CHC ■ Varices esofágicas

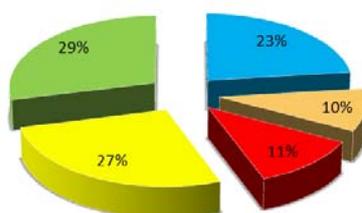


Fig. 47: Complicaciones asociadas a cirrosis en paciente éxitus (N=28)

De los 6 pacientes que desarrollaron clínica de cirrosis (2.6%) durante el período de valoración prospectiva, 4 pacientes tenían el índice APRI que indicaban “No fibrosis significativa”. Como complicaciones, desarrollaron ascitis (4 pacientes), encefalopatía hepática (2), CHC (2 pacientes), varices esofágicas (3) y HDA (1 paciente).

En los 28 pacientes, las causas más frecuentes de éxitus fue la propia cirrosis hepática (25%) seguido de carcinoma hepatocelular (21.4%). El tiempo medio entre la biopsia basal y la fecha

de fallecimiento fue de 8.1 años \pm 3.46 (rango 1.16- 13.93 años). **Fig. 48.**

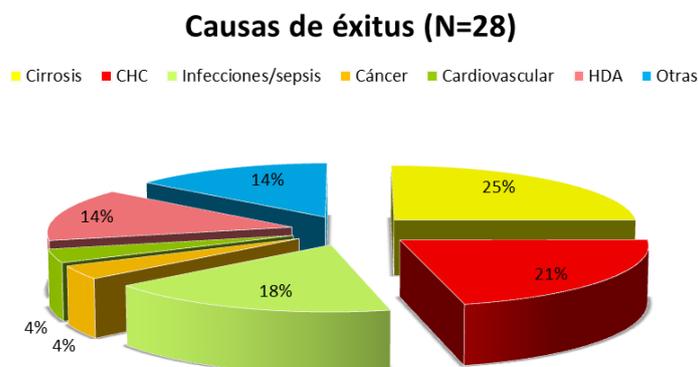


Fig. 48: Complicaciones asociadas a cirrosis en paciente éxitus (N=28)

En la **Fig. 49** se puede ver la media \pm DE en años entre la biopsia basal y la aparición de las diferentes complicaciones asociadas a cirrosis en los pacientes éxitus.

	Ascitis	HDA	Encefalopatía Hepática	CHC	Varices esofágicas
N (%)	12 (42.86%)	5 (17.86%)	5 (17.86%)	14 (50%)	15 (53.57%)
Media +/- DE	6.1 +/- 4.32	3.17 +/- 2.76	4.42 +/- 3.27	6.55 +/- 3.27	3.43 +/- 1.83
Rango	0.23-13.9	0.04-6.69	1.05-8.13	1.76-13.01	0.04-10.55

Fig. 49: Media en años entre la biopsia basal y la aparición de complicaciones (N=28)

En la **Fig. 50** se puede ver la media en años entre la biopsia basal y el fallecimiento en los 28 pacientes, según su fibrosis basal (METAVIR) y las complicaciones que desarrollaron cada paciente (se marcan los 6 pacientes que desarrollaron clínica de cirrosis durante el período de valoración prospectiva).

Fibrosis	Complicaciones	Tiempo medio entre biopsia basal y éxitus (años)	
F2	Encefalopatía hepática	6.37	
	Ascitis; HDA; Encef.hepática; CHC; VE	1.16	
F3	Ascitis	5.45	
	Encefalopatía hepática; Ascitis	2.31	
	CHC		3.86
			5.84
			5.85
			9.10
			10.96
			11.75
	CHC; Ascitis	13.93	
	CHC; HDA	4.98	
	CHC; Encef. Hepática; Ascitis	8.97	
	Varices esofágicas		6.75
			7.52
			9.70
			10.32
	Varices esofágicas; Ascitis	1.92	
		11.6	
		13.19	
Varices esofágicas; HDA	13.76		
Varices esofágicas; Encef.hepática; HDA; Ascitis		1.16	
		7.61	
Varices esofágicas; CHC		7.38	
		7.46	
		9.73	
Varices esofágicas, CHC; Ascitis	10.57		
Varices esofágicas; CHC; Ascitis; HDA	6.79		

Fig. 50: Media en años entre biopsia basal y fecha de éxitus según su estado de fibrosis y sus complicaciones (N=28)

CHC: carcinoma hepatocelular; HDA: hemorragia digestiva alta

Un total de 6 pacientes fueron diagnosticados de CHC (2.1%); 3 de ellos se trataban de pacientes que habían perdido controles en la unidad y por el médico de familia y que fueron reclutados para el estudio, con los dos índices positivos para cirrosis y con una ECO donde se diagnosticó el CHC, estando los 3 asintomáticos y sin descompensaciones previas de otro tipo; 2 de ellos, fueron éxitus.

De los 61 pacientes vivos con cirrosis, 29 pacientes habían desarrollado clínica de cirrosis en el período de seguimiento, y por tanto asumimos que su estado de fibrosis de control era F4 (**Fig. 51**). Los otros 32 pacientes estaban diagnosticados de hepatitis crónica en el momento basal, y de ellos, 10 pacientes (31.25% sobre los 32 pacientes con hepatitis crónica) desarrollaron clínica de CH durante el período de valoración prospectiva.

Complicación	N (%)	Media +/- (años) Rango (años)
Ascitis	4 (6.6%)	7.16 +/- 1.31 (5.81-8.88)
HDA	2 (3.3%)	4.74 +/- 3.61 (2.19-7.30)
Encefalopatía hepática	1 (1.6%)	6.02
CHC	8 (13.1%)	4.03 +/- 2.93 (7.73-16.42)
Varices esofágicas	30 (49.2%)	8.66 +/- 3.35 (2.19-15.80)

Fig. 51: Complicaciones y media en años de su aparición desde la biopsia basal

La ratio ♂:♀ fue de 31:30, con una media de edad de 67.11 años \pm 10.4 (rango 41-84 años). En 28 pacientes (45.9%) tenían antecedentes de hipertensión, 17 pacientes (27.9%) de diabetes y 6 pacientes (9.8%) de dislipemia. Unos total de 27 pacientes (44.3%) tenían antecedentes de transfusión, 2 pacientes (3.3%) eran ex ADVP y 7 pacientes (11.5%) tenían antecedentes de hepatitis aguda.

El genotipo más frecuente era el 1a/b con 54 pacientes (88.5%), seguido del genotipo 2 con 3 pacientes (4.9%), el genotipo 3 con 2 pacientes (3.3%) y 1 pacientes (1.6%) con genotipo 4.

Un total de 41 pacientes (67.2%) realizaron tratamiento: 19 pacientes (31.1%) con IFN; 6 pacientes (26.2%) con IFN+Riv, y 17 pacientes (27.9%) con IFNp+Riv. En 28 pacientes (45.9%) no hubo respuesta, en 5 pacientes (8.2%) hubo recidiva, 8 pacientes (13.1%) abandonaron el tratamiento por complicaciones asociadas al mismo.

En la biopsia basal, hay 2 pacientes (3.3%) con F0, 15 (24.6%) con F1, 6 pacientes (9.8%) con F2 y 38 pacientes (62.3%) con F3.

3. Necesidad de realizar biopsia de control por índices discordantes, con una N=142 (61.74% de los 230). La ratio ♂:♀ es de 76:66, con una mediana de edad de 61 años ± 11.9 con rango entre 23 y 84 años. La media entre la biopsia basal y la de control del estudio es de 10.85 años ± 3.1 con rango entre 4.1 y 16.82 años.

En 42 pacientes (29.3%) tenían antecedentes de hipertensión, 20 (14.1%) de diabetes y 8 (5.6%) de dislipemia. 63 pacientes (44.4%) tenían antecedentes de transfusión, 6 (4.2%) eran ex ADVP y 5 (3.5%) habían presentado un episodio de hepatitis aguda. El genotipo más frecuente era el 1a/b con un 85.9% (122 pacientes), seguido del genotipo 4 con 10 pacientes (7%), el genotipo 2 con 6 pacientes (4.2%) y el genotipo 3 con 4 pacientes (2.8%).

Un total de 93 pacientes (65.5%) realizaron tratamiento. En 62 pacientes (43.7%) no hubo respuesta, en 22 (15.5%) hubo recidiva, 1 (0.7%) presentaba contraindicaciones al tratamiento y 9 (6.3%) abandonaron el tratamiento por complicaciones asociadas al mismo.

Como complicaciones durante el estudio, 4 pacientes (2.81% sobre 142 biopsias) desarrollaron clínica de cirrosis: 3 pacientes (2.11% sobre 142 biopsias) desarrollaron CHC y 1 paciente (0.7% sobre 142 biopsias) varices esofágicas.

6.2.1.1.- Descripción general de la muestra. Características de los pacientes éxitus.

De los 290 inicialmente evaluados, unos 46 pacientes (15.86%) resultaron éxitus al final del estudio. De ellos, 35 pacientes (12.1%) fallecieron entre su primera biopsia y el inicio del estudio, y otros 11 pacientes (3.8%) fueron éxitus durante el estudio. De los 46 pacientes, 28 pacientes (9.65%) desarrollaron cirrosis, como hemos visto con anterioridad, mientras que 18 fue por otras causas diferentes. Entre las causas más frecuentes de éxitus son las propias de la cirrosis (15.2%) y el cáncer diferente al carcinoma hepatocelular.

Fig. 52 y 53.

La ratio ♂:♀ era 25:21, y la media de edad fue de 70.65 ± 11.5 (rango 41-89 años). El tiempo medio entre la biopsia basal y la fecha de éxitus fue de 8.11 ± 3.6 años (rango entre 1.16 y 14.66). De los 28 pacientes que habían desarrollado cirrosis, la media entre la biopsia basal y el fallecimiento fue de 8.1 años ± 3.9 (rango entre 1.16-13.93 años). El 32.6% (15 pacientes) habían sido transfundidos.

En la Fig. 54 se puede ver la relación entre las causas de éxitus y el sexo, con una $\chi^2=0.45$, no significativa.

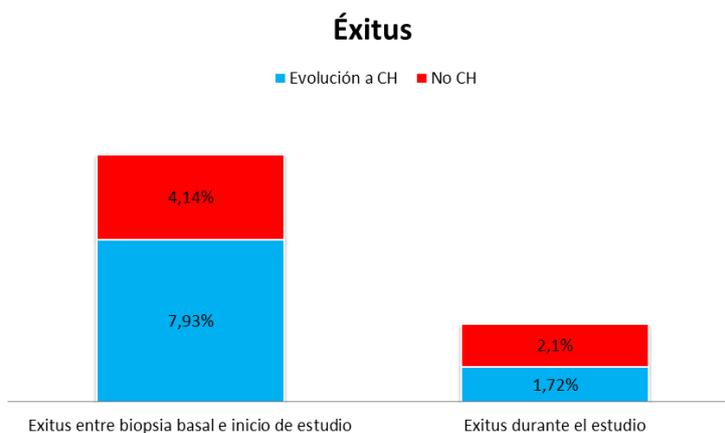


Fig. 52: Casos de éxitus (N=46 sobre 290)

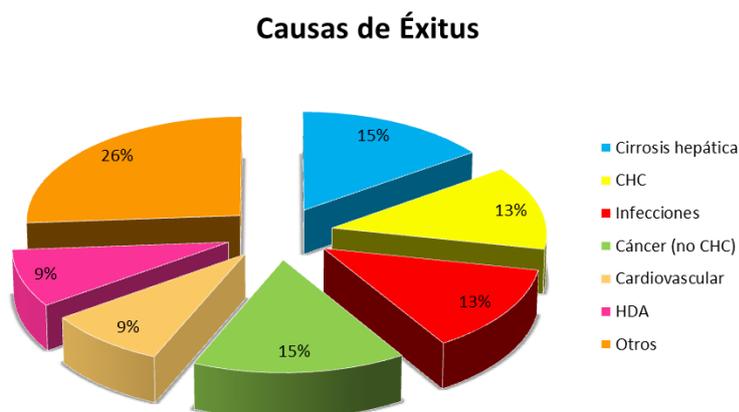


Fig. 53: Causas de éxitus (N=46)

	Hombre (N; %)	Mujer (N;%)
Cirrosis	4 (8.7%)	3 (6.52%)
Carcinoma hepatocelular	3 (6.52%)	3 (6.52%)
Infección	3 (6.52%)	3 (6.52%)
Cáncer	6 (13.04%)	1 (2.17%)
Cardiovascular	1 (2.17%)	3 (6.52%)
HDA	3 (6.52%)	1 (2.17%)
Otras	5 (10.87%)	7 (15.22%)

Fig. 54: Causas de éxitus según sexo (N=46)

6.2.2.- Descripción general de la muestra. Características analíticas.

En la siguiente tabla se muestran las principales variables demográficas, analíticas y ecográficas de los pacientes en el periodo de la primera biopsia basal y en el periodo de control (**Fig. 55**) Como se puede apreciar las variables introducidas en los diferentes métodos no invasivos (GGT, GOT, plaquetas), así como los mismos índices presentan diferencias estadísticamente significativas entre el periodo basal y el de control.

Sólo 13 pacientes (6.02%; N=216) tuvieron crioglobulinemia positiva ($\geq 5\mu\text{g/dL}$), siendo más predominante en el genotipo 2 (20% de dicho genotipo), seguido por el genotipo 4 (15,4% de dicho genotipo), y algo más frecuente en hombres (7 pacientes, 53.8%), sin significancia estadística.

	Período basal	Período de control	<i>p</i>
Edad (años) (media±DE)	48.04 ± 12.30	58.68± 12.78	< 0.0001
Plaquetas (x 10 ⁹) (media±DE)	193 ± 60.8	173.7 ± 69	< 0.0001
INR (media±DE)	1.03 ± 0.006	1.04 ± 0.13	0.031
GOT (media±DE)	66.89 ± 4.4	69.19 ± 51.3	0.511
GPT (media±DE)	106.73 ± 74.3	80.68 ± 56.5	< 0.0001
Ratio GOT/GPT (media±DE)	0.68 ± 0.24	0.92 ± 0.36	0.008
GGT (media±DE)	68.12 ± 62.7	85.66 +/- 101.5-	< 0.0001
Colesterol (media±DE)	180.9 ± 34.3	170.1 ± 36.7	< 0.0001
Hipertrofia lóbulo caudado (N;%)	14 (6.1%)	30 (13%)	< 0.0001
Atrofia del lóbulo derecho (N;%)	2 (0.9%)	4 (1.7%)	0.019
Esplenomegalia (N;%)	37 (16%)	64 (27.8%)	< 0.0001
Índice Forns (media±DE)	5.26 ± 1.9	6.75 ± 2.17	< 0.0001
Índice APRI (media±DE)	1.1 ± 0.98	1.5 ± 1.86	< 0.0001
Índice NIHCED	5.97 ± 10.2	17.46 ± 16.84	< 0.0001
Fibrosis ≥ 2	120 (52.2%)	159 (69.1%)	< 0.0001

Fig. 55: Tabla con características analíticas, ecográficas, anatomopatológicas y de los índices entre el periodo basal y control, N=230.

6.2.3.- Descripción general de la muestra. Características ecográficas.

Todos los pacientes (290) tenían una ecografía hepática realizada en el momento de la biopsia basal, y a 250 pacientes se les pudo realizar la segunda ecografía (del estudio). De los 40 pacientes a los que no se pudo realizar la ECO, todos ellos eran pacientes fallecidos. **Fig.56.**

	Hipertrofia lóbulo caudado	Atrofia de LHD	Esplenomegalia	Ascitis
ECO basal (N=290)	16 (5.5%)	2 (0.7%)	40 (13.8%)	0
ECO segunda (N=250)	36 (12.4%)	4 (1.4%)	69 (23.8%)	5 (1.7%)

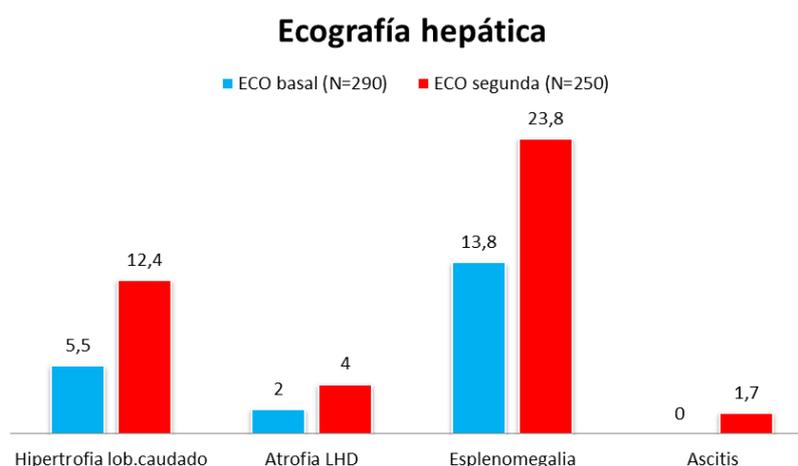


Fig. 56: Resultados de ecografías hepáticas

Entre los pacientes que desarrollaron cirrosis, en la **Fig. 57** se puede ver la evolución de los hallazgos ecográficos, teniendo en cuenta que la ecografía basal la realizaron todos los pacientes (N=63) y la ecografía de control sólo N=41 pacientes (65.1%). En la biopsia basal, hay 8 pacientes (12.7%) con F1, 5 pacientes (7.9%) con F2 y 50 pacientes (79.4%) con F3.

Hallazgos ecográficos

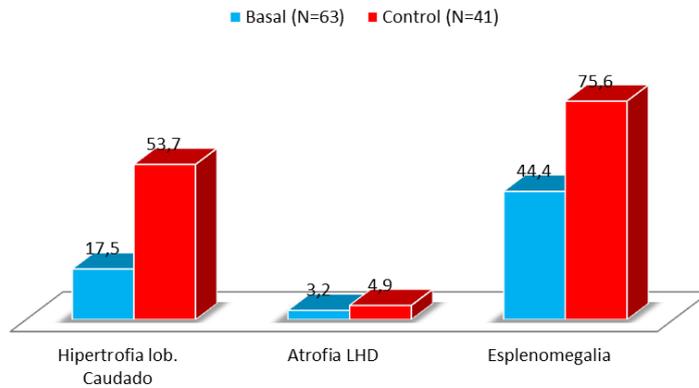


Fig. 57: Hallazgos ecográficos basales y control en los pacientes que desarrollaron cirrosis hepática

6.2.4.- Descripción general de la muestra. Características anatomopatológicas.

6.2.4.1. Características de la biopsia

Todos los pacientes (290) tenían una biopsia hepática previa (biopsia basal), de los cuales, 230 fueron incluidos para evaluar el estado de fibrosis en el momento control, de los cuales, se realizó una biopsia de control en 142 pacientes (61.72% sobre los 230). **Fig. 58.**

Biopsias

- No acepta
- No por enfermedad/senectud
- No por índices negativos
- No por índices positivos
- Sí
- Cirrosis
- Éxito

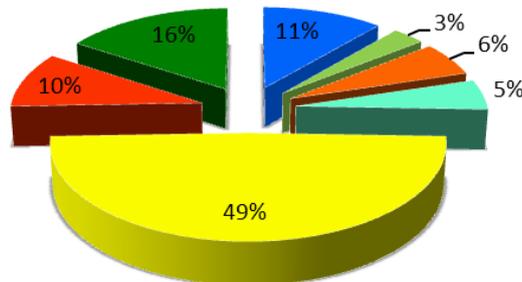


Fig. 58: Biopsias (N=290)

La media de tiempo entre la biopsia basal y la evaluación clínica del estudio, y por tanto, de la biopsia en los pacientes a los que se les realizó (N=142), fue de 11 años (rango 6-17 años).

En las biopsias del período de control, la media del diámetro fue 0.13 cm ± 0.14 (rango 0.1-1.3), longitud media 1.41 cm ± 0.31 (rango 0.2-2.1) y la media de espacios porta de 10.54 ± 3.4 (rango 2-22).

6.2.4.2. Características de la fibrosis hepática

Además, hemos evaluado la frecuencia de los distintos grados de fibrosis hepática, tanto mediante el índice Knodell como METAVIR, en las biopsias previas (N=290) y en la evaluación posterior (N=230). **Fig.59, 60 y 61.**

	Fibrosis Knodell basal (N=230)	Fibrosis METAVIR basal (N=230)	Fibrosis Knodell control (N=230)	Fibrosis METAVIR control (N=230)
Media +/- DE	1.76 +/- 1.2	1.63 +/- 1.2	2.64 +/- 1.43	2.5 +/- 1.44
Rango	0-3	0-3	0-4	0-4

Fig. 59: Media ± DE de la fibrosis hepática

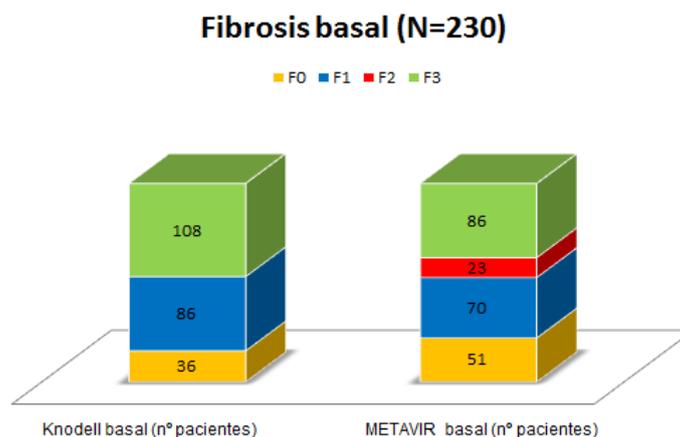


Fig. 60: Fibrosis basal mediante Knodell y METAVIR

Fibrosis evolución (N=230)

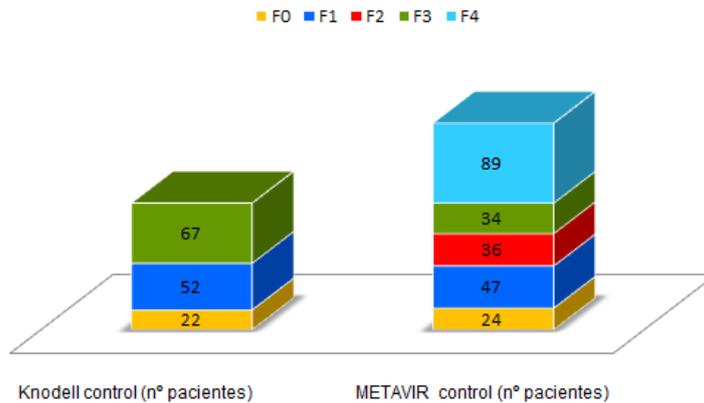


Fig. 61: Fibrosis control mediante Knodell y METAVIR

Entre los pacientes a los que se les realizó biopsia de control (N=142), en la siguiente tabla se especifica la evolución de la fibrosis (índice METAVIR) desde la biopsia basal a la biopsia de control. **Fig. 62.**

Fibrosis basal (Metavir)	Fibrosis en la biopsia de control (Metavir)					Total
	F0	F1	F2	F3	F4	
F0	10 (23.26%)	13 (30.23%)	11 (25.58%)	7 (16.28%)	2 (4.65%)	43
F1	4 (7.84%)	20 (39.22%)	14 (27.45%)	8 (15.67%)	5 (9.80%)	51
F2	0	4 (22.22%)	5 (27.78%)	6 (33.33%)	3 (16.67%)	18
F3	2 (6.67%)	1 (3.33%)	6 (20%)	13 (43.33%)	8 (26.67%)	30
Total	16	38	36	34	18	142

Fig. 62: Evolución de la fibrosis (METAVIR), N=142

En 94 pacientes (66.2%) hay cambio en el estado de fibrosis entre la primera y la segunda biopsia, con una media de tiempo de evolución de la fibrosis de 12 años (IC 95% = 11.41-12.59 años) y una mediana de 11.86 años (IC 95% = 10.75-12.96 años). **Fig. 63.**

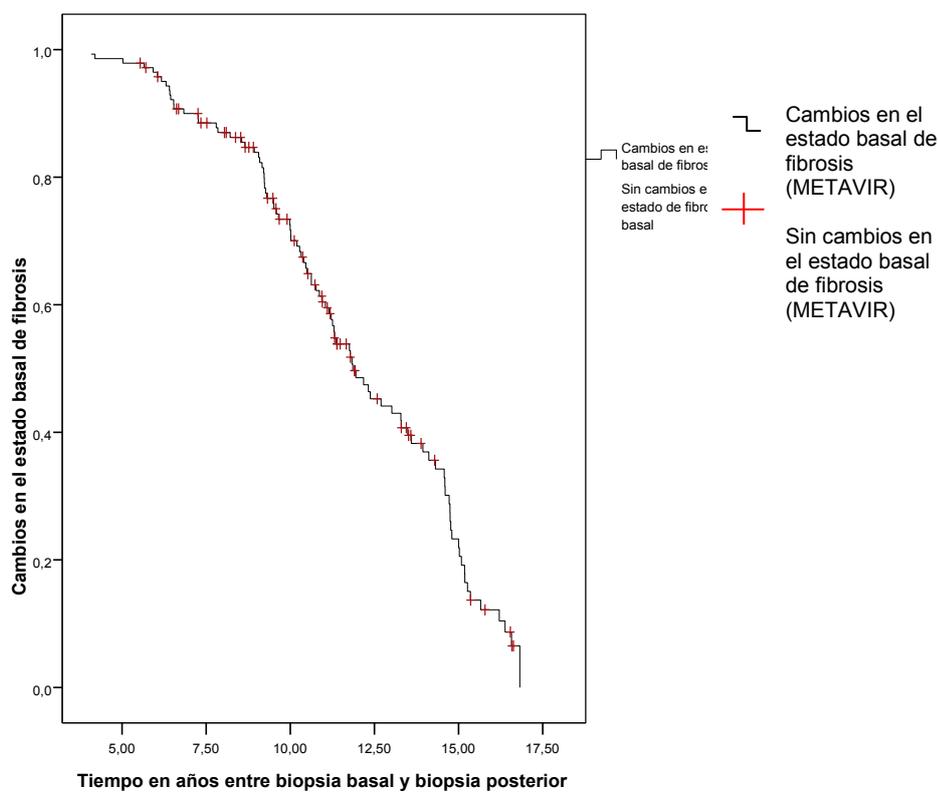


Fig. 63: Evolución de la fibrosis (METAVIR) en el tiempo

Destaca que hay 9 pacientes en los que en la biopsia basal presentaban un fibrosis (METAVIR) F3 y en la biopsia de control la fibrosis mejora.

6.2.5.- Descripción general de la muestra. Características de los índices no invasivos.

Se ha calculado la media \pm DE y rango de los tres índices en el estado basal y en el control del estudio, en el grupo de pacientes con los tres índices negativos en el control (N=17), en el grupo de pacientes con los tres índices positivo para cirrosis (N=14), pacientes con hepatitis crónica que desarrollaron de clínica asociada a cirrosis (N=29), en los pacientes que fallecieron por cirrosis (N=28), y en los pacientes hepatitis crónica y a los que se realiza biopsia de control (N=142). **Fig. 64, 65, 66, 67 y 68.**

	Basal (media +/- DE) (rango)	Actual (media +/- DE) (rango)
Forns	2.41 +/- 0.66 (1.46-3.76)	3.43 +/- 0.82 (1.75-4.5)
APRI	0.47 +/- 0.34 (0.17-1.6)	0.34 +/- 0.17 (0.15-0.54)
Sabadell'sNIHCED	0.59 +/- 2.4 (0-10)	0

Fig. 64: Media y DE de los índices en pacientes con los tres índices indicativos de ausencia de fibrosis (N=17)

	Basal (media +/- DE) (rango)	Actual (media +/- DE) (rango)
Forns	6.61 +/- 0.94 (4.39-7.61)	9.16 +/- 1.42 (6.25-11.64)
APRI	1.8 +/- 1.12 (0.59-4.03)	3.26 +/- 1.1 (2-5.2)
Sabadell'sNIHCED	12 +/- 9.1 (0-30)	33.71 +/- 10.42 (23-55)

Fig. 65: Media y DE de los índices en pacientes con los tres índices indicativos de cirrosis (N=14)

	Basal (media +/- DE) (rango)	Actual (media +/- DE) (rango)
Forns	4.95 +/- 1.47 (1.21-9.52)	6.21 +/- 1.34 (2.72-9.39)
APRI	0.83 +/- 0.52 (0.17-5.41)	0.94 +/- 0.14 (0.16-5.41)
Sabadell'sNIHCED	3.08 +/- 5.87 (0-23)	11.18 +/- 9.1 (0-45)

Fig. 66: Media y DE de los índices en pacientes que desarrollaron clínica de cirrosis (N=29)

	Basal (media +/- DE) (rango)	Control (media +/- DE) (rango)
Forns	8.05 +/- 1.77 (4.5-11.8)	10.11 +/- 2.2 (6.5-12.2)
APRI	3.01 +/- 6.4 (0.3-34.85)	3.79 +/- 5.3 (1.05-14.54)
Sabadell's NIHCED	26.68 +/- 16.54 (0-61)	50.33 +/- 6.2 (40-55)

Fig. 67: Media y DE de los índices en pacientes que fueron éxitus por cirrosis (N=28)

	Basal (media +/- DE) (rango)	Actual (media +/- DE) (rango)
Forns	7.1 +/- 1.57 (3.44-9.89)	9.54 +/- 1.36 (7.58-13.42)
APRI	2.14 +/- 1.55 (0.2-6.24)	3.66 +/- 2.72 (0.54-9.96)
Sabadell'sNIHCED	14.52 +/- 13.2 (0-48)	43.8 +/- 12.5 (19-70)

Fig. 68: Media y DE de los índices en pacientes a los que se realiza biopsia de control (N=142)

B. EVOLUCIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA.

Para el análisis bivariado se incluyeron 230 pacientes, que son aquellos de los que pudimos conocer la fibrosis hepática de control, bien por biopsia, porque han desarrollado cirrosis (asumimos F4), o bien porque los dos índices fueron positivos, y por tanto, sugestivo de cirrosis (F4), o bien porque los dos índices fueron negativos (asumimos que el paciente mantiene la misma fibrosis que la biopsia basal).

Hemos calculado el estudio bivariado entre la fibrosis de control (METAVIR), considerándola como variable dependiente, y diferentes factores basales que pueden estar asociados a la evolución de la fibrosis. Para ello, hemos usado la fibrosis considerando F0,1,2,3 vs F4 (cirrosis).

Se ha calculado el test de la χ^2 para las variables cualitativas, además de su odds ratio y del IC al 95%. Se han estudiado los posibles factores predictivos de cirrosis recogidos en el análisis basal y los hemos relacionado con la variable que hemos creado, variable F4 (cirrosis). En la **Fig. 69** se pueden ver las variables cualitativas, y en la **Fig. 70** las cuantitativas.

Variable	F0→F3 (N;%)	F4 (N;%)	p	Odds ratio	IC al 95%
Sexo					
Hombre	71 (30.87%)	46 (20%)	0.74	1.1	0.64-1.9
Mujer	71 (30.87%)	42 (18.26%)			
HTA	35 (15.22%)	38 (16.52%)	0.003	2.32	1.32-4.1
DLP	6 (2.61%)	11 (4.78%)	0.02	3.24	1.15-9.1
DM	61 (26.52%)	27 (11.74%)	0.000	4.8	2.3-10.10
ADOs	7 (3.04%)	21 (9.13%)	0.000	6.01	2.45-14.93
Insulina	3 (1.30%)	7 (3.04%)	0.035	4	1-15.92
Hepatitis aguda	5 (2.17%)	8 (3.48%)	0.075	2.74	0.9-8.66
Enol activo	15 (6.52%)	4 (1.74%)	0.12	0.4	0.13-1.26
Ex enol	26 (11.3%)	14 (6.1%)	0.64	0.84	0.41-1.7
Fumador	39 (17%)	17 (7.4%)	0.153	0.63	0.33-1.19
Ex fumador	34 (15.2%)	26 (11.7%)	0.42	1.23	0.7-2.3
Genotipo (N=210)					
g1a/b	120 (57.14%)	21 (10%)	0.21	1.84	0.71-4.8
g2	5 (2.4%)	3 (1.43%)	0.78	1.24	0.29-5.33
g3	6 (2.86%)	2 (0.95%)	0.63	0.67	0.13-3.42
g4	10 (4.76%)	1 (0.48%)	0.085	0.19	0.024-1.54
g2, g3 ó g4	21 (10%)	6 (2.9%)	0.21	0.54	0.21-1.42
Tratamiento	92 (40%)	52 (22.61%)	0.4	0.8	0.45-1.4
IFN	51 (22.17%)	23 (10%)	0.2	0.64	0.32-1.3
IFN+Riv	65 (28.26%)	33 (14.35%)	0.37	0.72	0.35-1.5
IFNp+Riv	57 (24.78%)	34 (14.78%)	0.52	1.3	0.62-2.59
Ecografía					
Hipertrofia caudado basal (N=230)	2 (0.87%)	12 (5.22%)	0.000	11.1	2.41-50.68
Hipertrofia caudado control (N=208)	3 (1.44%)	27 (12.98%)	0.000	32.1	9.24-111.35
Atrofia LHD basal (N=230)	0	2 (0.87%)	0.071		
Atrofia LHD control (N=208)	0	4 (1.92%)	0.003		
Esplenomegalia basal (N=230)	5 (2.17%)	32 (13.91%)	0.000	15.66	5.8-42.24
Esplenomegalia control (N=208)	21 (10.1%)	43 (20.67%)	0.000	10.77	5.42-21.4
Ascitis control (N=208)	0	5 (2.4%)	0.000		

Fibrosis previa (METAVIR)					
F0	49 (21.30%)	2 (0.87%)	0.000	0.044	0.01-0.2
F1	55 (23.91%)	15 (6.52%)	0.001	0.33	0.17-0.62
F2	16 (6.96%)	7 (3.04%)	0.42	0.68	0.3-1.73
F3	22 (9.57%)	64 (27.83%)	0.000	14.55	7.57-27.95

Enol y Ex enol en ♀ < 20 g/día y en ♂ < 30g/día

Fig. 69: Análisis bivariado: Variables cualitativas. Grupo F0,1,2,3 vs F4

Variable	F0→3			F4			p	R de Pearson	Correlación de Spearman
	N	Mediana	DE	N	Mediana	DE			
Edad *	142	58	21	88	66.5	11.5	0.000		0.46
Plaquetas basal (x10 ⁹ /L)	142	211,9	56.6	88	149	53.52	0.000	- 0.48	
Plaquetas control (x10 ⁹ /L)	142	203	56.34	66	110.5	48.39	0.000	- 0.63	
TP basal *	142	1.01	0.07	88	1.03	0.06	0.000		0.31
TP control *	142	1	0.06	66	1.07	0.11	0.000		0.6
GOT basal *	142	45	24	88	78.5	77	0.000		0.45
GOT control *	142	43	25	66	80	69	0.000		0.46
GPT basal *	142	75	58	88	110	107	0.000		0.28
GPT control *	142	59	45	66	98	69	0.006		0.19
GOT/GPT basal *	142	0.63	0.23	88	0.7	0.26	0.000		0.34
GOT/GPT control *	142	0.77	0.29	66	0.95	0.6	0.000		0.42
GGT basal *	142	41	47	88	82.5	72	0.000		0.32
GGT control *	142	44	65	66	85	70	0.002		0.22
Colesterol basal	142	184.8	34.66	88	176.1	37.4	0.074	- 0.12	
Colesterol control	142	177.6	34.5	66	153.8	36.2	0.000	- 0.30	
HOMA *	127	2.54	2.12	55	4.1	3.71	0.001		0.25
IMC *	117	26.6	4.1	45	27.6	6.82	0.012		0.20
Forns basal	142	4.5	1.52	88	7.16	1.66	0.000	0.64	
Forns control	142	5.7	1.5	66	9.1	1.56	0.000	0.73	
APRI basal *	142	0.61	0.46	88	1.45	1.71	0.000		0.55
APRI control *	142	0.59	0.47	66	2.17	2.23	0.000		0.64
NIHCED basal *	142	0	0	88	10	17	0.000		0.60
NIHCED control *	142	10	13	66	30	22	0.000		0.73
Tiempo entre biopsia basal y control (años)	142	10.7	2.91	66	11.01	3.04	0.454	0.052	

* Distribución no normal. Se ha calculado mediana y amplitud intercuartil

Fig. 70: Análisis bivariado: Variables cuantitativas. Grupo F0,1,2,3 vs F4

6.3.1.- Variables demográficas y epidemiológicas

Se ha estudiado qué variables eran estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en relación al desarrollo de cirrosis (F4). Las variables estudiadas fueron el sexo, la edad, los antecedentes personales de HTA, DLP y DM (incluyendo el uso de antidiabéticos orales e insulina), el consumo de tabaco y enol ($\text{♂} < 30 \text{ g/día}$; $\text{♀} < 20 \text{ g/día}$), el antecedente de hepatitis aguda, el IMC y el tiempo transcurrido entre la biopsia basal y el control.

Como se puede apreciar en las **Fig. 71, 72, 73, 74, 75 y 76** resultaron estadísticamente significativos los antecedentes de HTA, de DLP, de DM (y el uso de ADOs e insulina), la edad y el IMC.

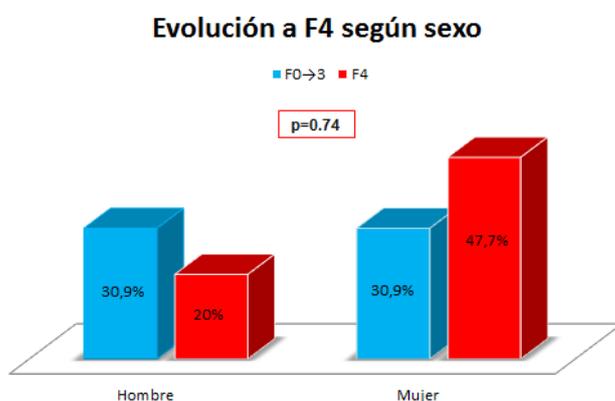


Fig. 71: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 según el sexo

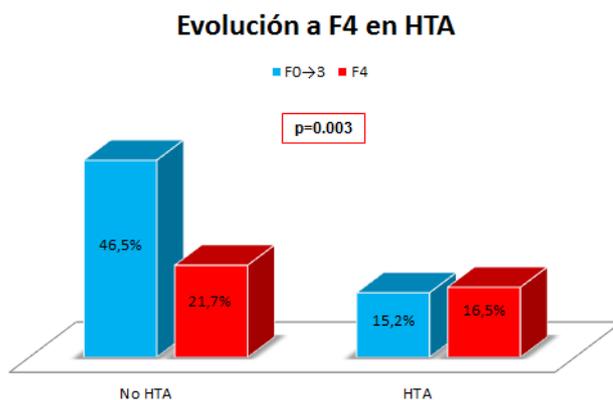


Fig. 72: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 según tener o no tener HTA

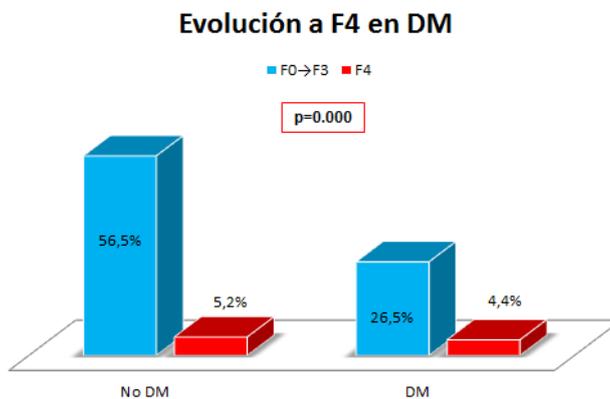


Fig. 73: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 según tener o no tener DM

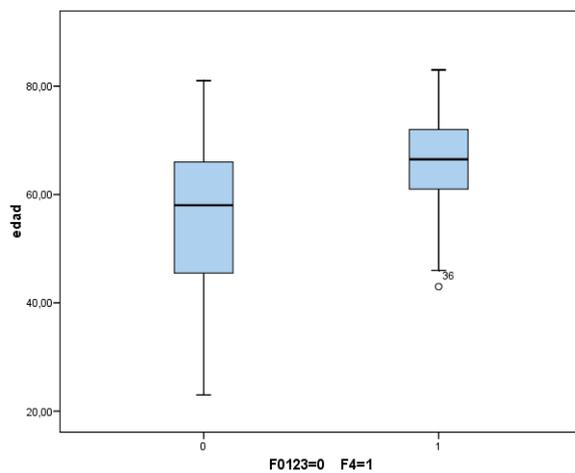


Fig. 74: Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 según edad

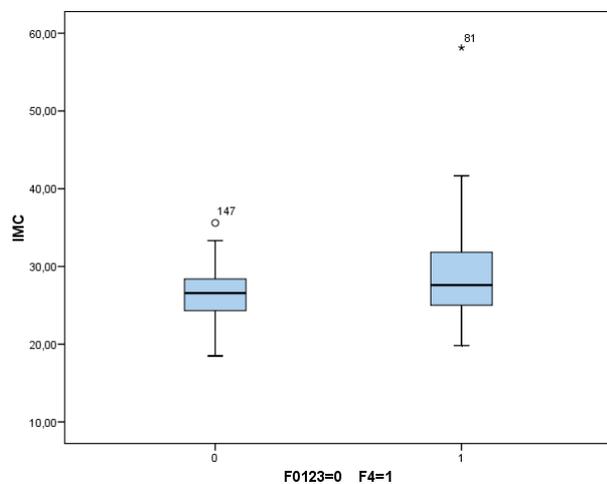


Fig. 75: Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 según IMC

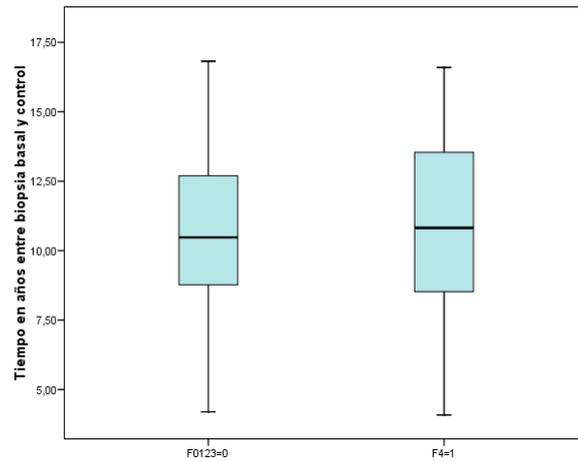


Fig. 76: Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 según tiempo entre biopsia basal y control

6.3.2.- Variables dependientes del virus

Se ha estudiado la evolución a cirrosis en función de los diferentes genotipos, y además, se ha hecho la correlación g1 vs g2, 3, 4, sin hallar diferencias estadísticamente significativas. **Fig. 77.**

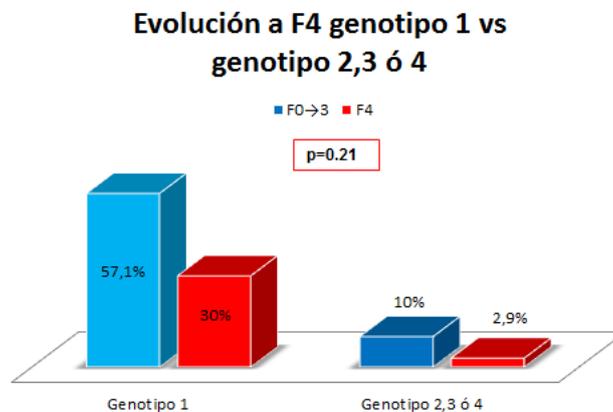


Fig. 77: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 g1 vs g2,3,4

6.3.3.- Variables hematológicas y bioquímicas

Se han estudiado las variables analíticas más importantes: plaquetas, tiempo de protrombina, GOT, GPT, GGT, ratio GOT/GPT, colesterol y HOMA, tanto en el momento basal como en el control, y se han relacionado con la probabilidad de desarrollo de

cirrosis, siendo estadísticamente significativa en todos los casos, excepto en colesterol basal. Fig. 78, 79 y 80.

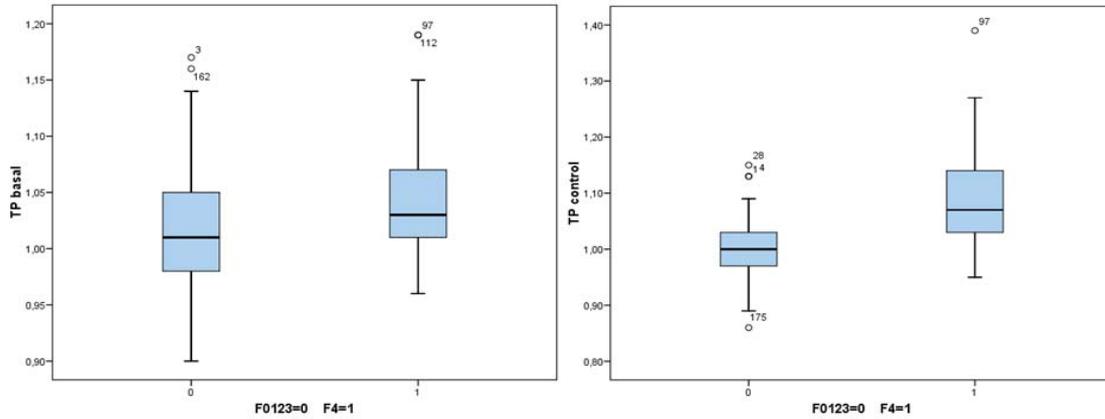


Fig. 78: Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 en función TP basal y control

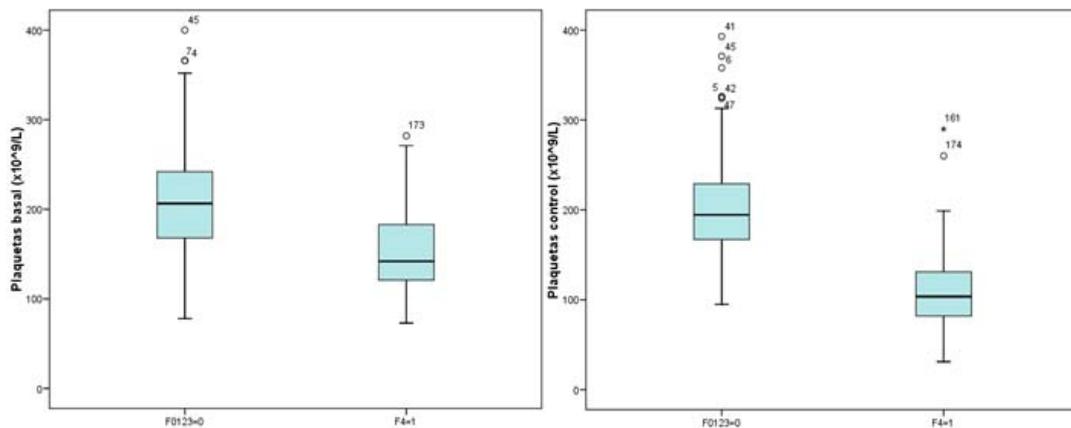


Fig. 79: Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 en función plaquetas basal y control

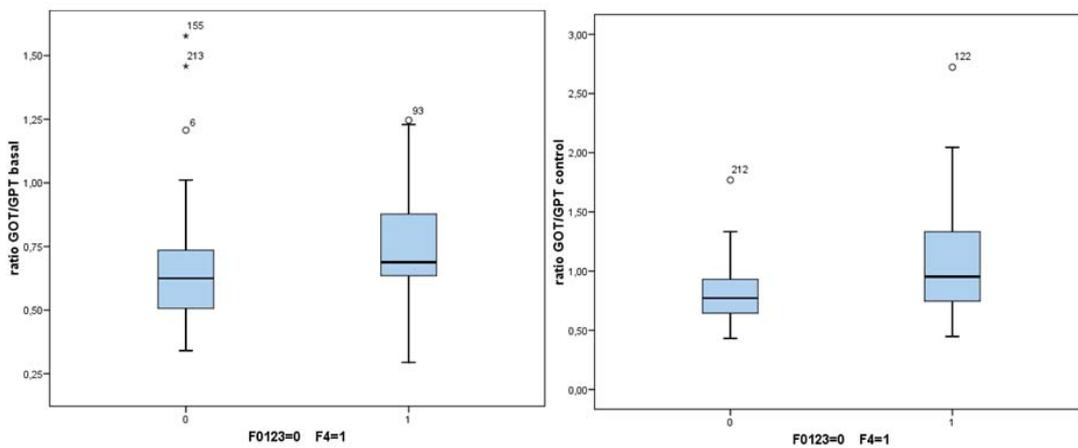


Fig. 80: Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 en función ratio GOT/GPT basal y control

6.3.4.- Variables dependientes del tratamiento

Se valoró si el hecho de tratar o no de tratar tenía significación estadística, así como el uso de los diferentes tratamientos, sin ser estadísticamente significativo en ningún caso. **Fig. 81.**

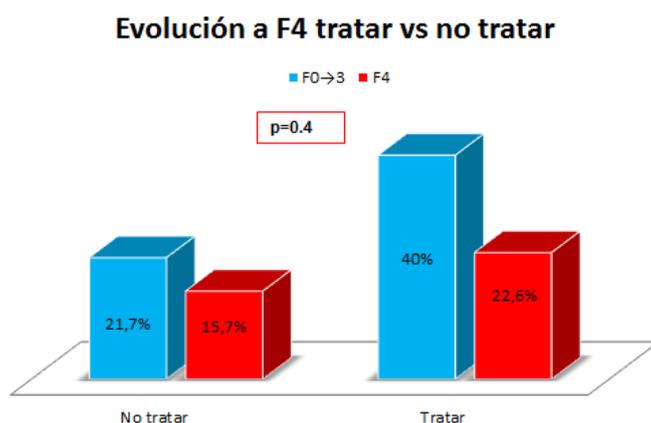


Fig. 81: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 en función tratar vs no tratar

6.3.5.- Variables dependientes de los datos ecográficos

Se estudiaron los valores ecográficos de hipertrofia del lóbulo caudado, atrofia del lóbulo hepático derecho, esplenomegalia y ascitis, los tres primeros tanto de forma basal como de control, y en el caso de la ascitis sólo de control. Se mostraron estadísticamente significativos todos los hallazgos, excepto la atrofia del lóbulo hepático derecho basal, y en el caso de la ascitis, era normal, dado que se trata de un criterio de cirrosis. **Fig. 82, 83 y 84.**

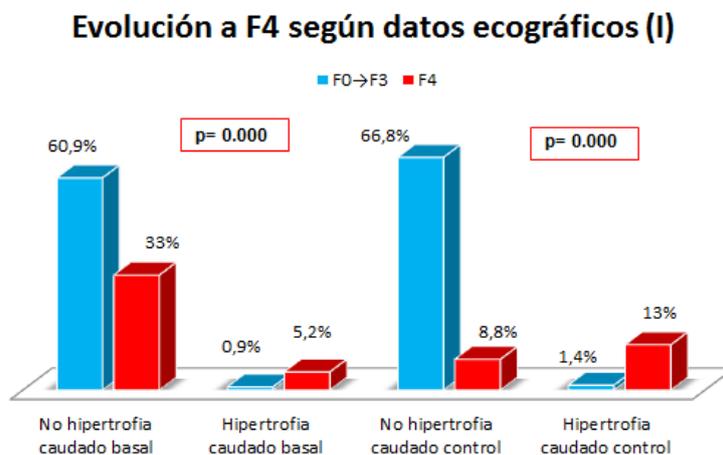


Fig. 82: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 en función hipertrofia del caudado

Evolución a F4 según datos ecográficos (II)

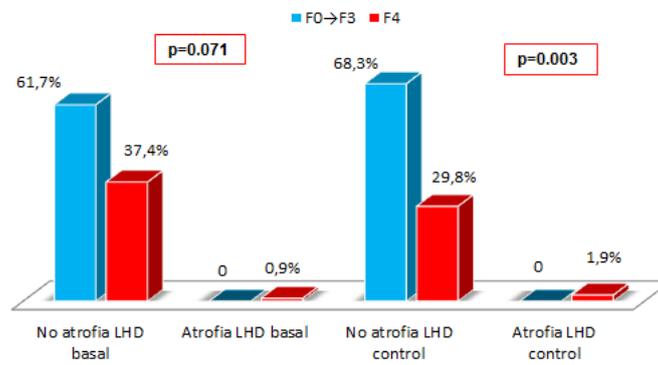


Fig. 83: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 en función atrofia del LHD

Evolución a F4 según datos ecográficos (III)

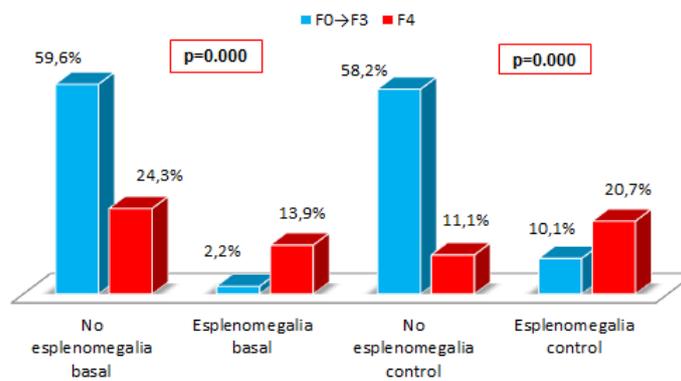


Fig. 84: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 en función esplenomegalia

6.3.6.- Variables histológicas

Se estudió la relación de los diferentes grados de fibrosis (METAVIR) de la biopsia basal y el desarrollo de cirrosis. **Fig. 85.**

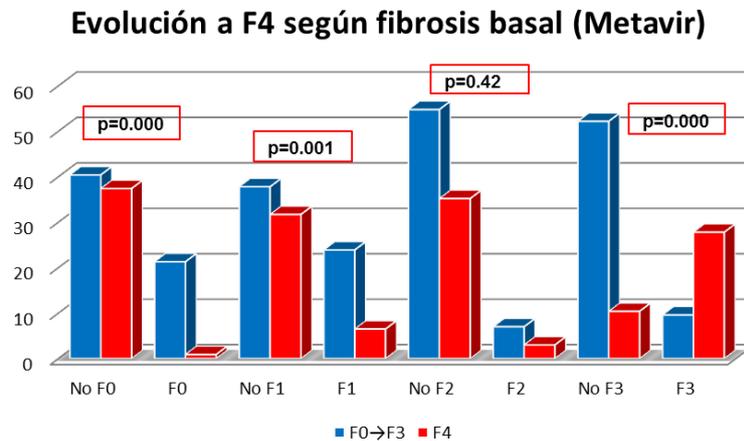


Fig. 85: Bivariado, cualitativa. Evolución a F4 en función del grado de fibrosis basal

6.3.7.- Índices predictivos

Se estudió la existencia de significancia estadística de evolución a cirrosis en función de los índices predictivos basales, siendo todos ellos estadísticamente significativos. **Fig. 86, 87 y 88.**

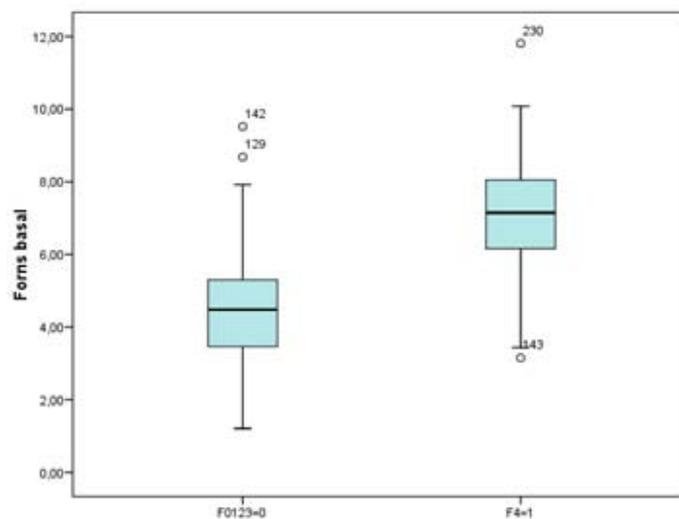


Fig. 86: Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 en función del índice Forns basal

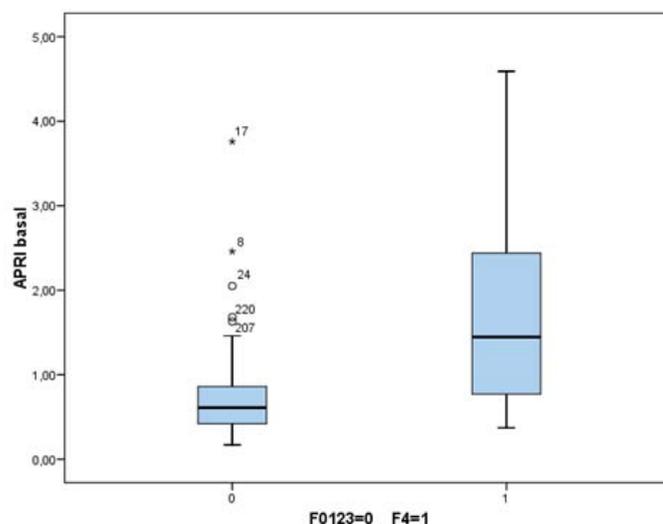


Fig. 87 Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 en función del índice APRI basal

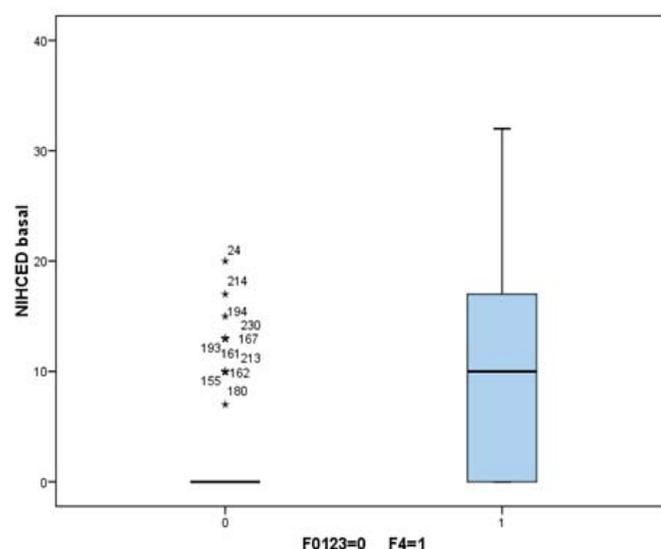


Fig. 88: Bivariado, cuantitativa. Evolución a F4 en función del índice NIHCED basal

6.3.8.- Variables seleccionadas

De las variables estadísticamente significativas, tanto cualitativas como cuantitativas, se han seleccionado las que tiene mejor OR e IC, R de Pearson y correlación de Spearman (F0,1,2,3 vs F4). De las variables estadísticamente significativas, se han seleccionado las que mejor correlación presentaban. (**Fig. 89**). Entre las variables cualitativas, la mejor OR es la de esplenomegalia basal y F3 en la biopsia basal, pero con un amplio IC. La variable DM tiene un OR 5.02 con un buen IC.

Variables cualitativas

	OR	IC	p
HTA	2.32	1.32-4.1	0.003
DM	4.8	2.3-10.10	0.000
Esplenomegalia basal	15.66	5.8-42.24	0.000
Esplenomegalia control	10.77	5.42-21.4	0.000
F3 (Metavir; biopsia basal)	14.55	7.57-27.95	0.000

Variables cuantitativas

	R de Pearson	Correlación de Spearman	p
Edad		0.46	0.000
TP control		0.6	0.000
Plaquetas basal	- 0.48		0.000
Plaquetas control	- 0.63		0.000
GOT basal		0.45	0.000
GOT control		0.46	0.000
ratio GOT/GPT basal		0.34	0.000
ratio GOT/GPT control		0.42	0.000
Forns basal	0.64		0.000
Forns control	0.73		0.000
APRI basal		0.55	0.000
APRI control		0.64	0.000
NIHCED basal		0.60	0.000
NIHCED control		0.73	0.000

Fig. 89: Odds ratio y correlaciones de las variables cualitativas y cuantitativas estadísticamente significativas. Grupo F0.1.2.3 vs F4

Entre las variables cuantitativas, hemos elegido las que tiene una correlación de Spearman moderada y fuerte, y en este caso, todas son positivas. Entre los índices predictivos, el que más alta correlación, en este caso positiva, es el índice de Forns (basal<control), seguida de NIHCED, con una correlación moderada-fuerte (basal<control) y por último, el APRI, con una correlación moderada (basal<control).

C. ANÁLISIS MULTIVARIADO PARA LA PREDICCIÓN DE EVOLUCIÓN DE LA CIRROSIS HEPÁTICA

Con los datos obtenidos en el análisis bivariado por un lado, se evaluó cuáles eran los mejores parámetros para predecir la evolución a cirrosis, y por otro lado, se evaluó la capacidad de los índices Forns, APRI y NIHCED para predecir la evolución a cirrosis. **Fig. 90.**

		Fibrosis actual (Metavir)					Total
		F0	F1	F2	F3	F4	
Fibrosis previa (Metavir)	F0	18	13	11	7	2	51
	F1	4	29	14	8	15	70
	F2	0	4	5	7	7	23
	F3	2	1	6	13	64	86
	Total	24	47	36	35	88	230

		Fibrosis actual (Metavir)			Total
		F0F1	F2F3	F4	
Fibrosis previa (Metavir)	F0F1	104		17	121
	F2F3F4		38	71	109
	Total	142		88	230

Fig. 90: Recuento de pacientes y su fibrosis previa y en el momento del control.

6.4.1.- Factores predictivos de fibrosis. Estudio multivariado para cirrosis (F0,1,2,3 vs F4).

Con las variables estadísticamente significativas del análisis bivariado y de los índices Forns, APRI y NIHCED se ha realizado una regresión logística para evaluar su capacidad para predecir su evolución cirrosis.

De las variables basales estadísticamente significativas del estudio bivariado, se seleccionaron aquellas que presentaban mejor correlación. Con ellas se realizó un modelo de regresión logística. Para ello se consideraron variables dicotómicas (HTA, DM, genotipo 1; fibrosis previa F3 y esplenomegalia basal) y variables continuas (índices Forns, APRI y NIHCED basales; edad, plaquetas basales y GOT basal).

Se introdujeron los datos y se realizó el estudio de regresión logística con el método "Introducir" con un R^2 de Cox y Snell de 0.426 y R^2 de Nagelkerke de 0.601. Los factores independientes predictivos de evolución a cirrosis fueron DM (ser diabético), F3 basal, Forns basal y NIHCED basal. **Fig. 91.**

Variables	Beta	Error estándar	p	OR	I.C. al 95,0%	
					Inferior	Superior
DM	1.203	0.62	0.052	3.33	0.992	11.181
F3 previa	1.91	0.49	0.015	3.3	1.26	8.602
Plaquetas basal	-0.001	0.009	0.011	0.915	0.982	1.017
NIHCEDPrevio	0,083	0,041	0,042	1.1	1,003	1,18
HTA	-0.731	0.55	0.184	0.481	0.164	1.414
Genotipo 1	0.647	0.78	0.41	1.91	0.413	8.82
Esplenomegalia basal	1.136	0.861	0.187	3.13	0.576	16.83
GOT basal	0.022	0.02	0.273	1.022	0.983	1.062
Edad	0.001	0.032	0,964	1.001	0.94	1.07
APRIPrevio	-0.471	1.146	0.681	0.624	0.066	5.902
Forns basal	0.54	0.29	0.062	1.715	0,974	3.020
Tiempo entre analítica basal y control	0.145	0.086	0.092	1.156	0.977	1.37
Constante	-7.91	2.882	0.006	,000		

Fig. 91: Variables de la ecuación para cirrosis.

En un contexto predictivo, el modelo clasifica correctamente el 85.8% de los individuos, con una capacidad de predecir una buena respuesta (especificidad 92.9%) y el fracaso (sensibilidad 69.8%). Así, por ejemplo, el desarrollar cirrosis es 3.33 veces más probable si es diabético y si existe fibrosis previa F3, o bien, 1.1 veces por cada punto adicional del índice NIHCED.

Desde un punto de vista explicativo, las únicas variables aplicando la regresión logística que son estadísticamente significativas como predictores de evolución a cirrosis son la diabetes, tener fibrosis previa F3, plaquetas basales y el índice NIHCED.

En la siguiente página, se muestra la ecuación que proponemos y la curva ROC calculada, con un área bajo la curva fue de 0.84 con IC al 95% (0.78-0.89).
Fig. 92.

En el **Anexo 8** se adjunta un Excel en el que se pueden introducir los datos de la fórmula y nos calcula el porcentaje de probabilidad de desarrollo de cirrosis para el tiempo (en años) que se desee.

1

$$P(\text{Cirrosis}=1) = \frac{1 + e^{(7.91 - 1.203 \cdot \text{DM} - 1.91 \cdot \text{F3} - 0.54 \cdot \text{Forns} + 0.731 \cdot \text{HTA} - 0.647 \cdot \text{g1} - 1.136 \cdot \text{Espleno} + 0.001 \cdot \text{Plaq} - 0.022 \cdot \text{GOT} - 0.001 \cdot \text{Edad} + 0.471 \cdot \text{APRI} - 0.083 \cdot \text{NIHCEd} - 0.145 \cdot \text{Tiempo})}}{1 + e^{(7.91 - 1.203 \cdot \text{DM} - 1.91 \cdot \text{F3} - 0.54 \cdot \text{Forns} + 0.731 \cdot \text{HTA} - 0.647 \cdot \text{g1} - 1.136 \cdot \text{Espleno} + 0.001 \cdot \text{Plaq} - 0.022 \cdot \text{GOT} - 0.001 \cdot \text{Edad} + 0.471 \cdot \text{APRI} - 0.083 \cdot \text{NIHCEd} - 0.145 \cdot \text{Tiempo)}}$$

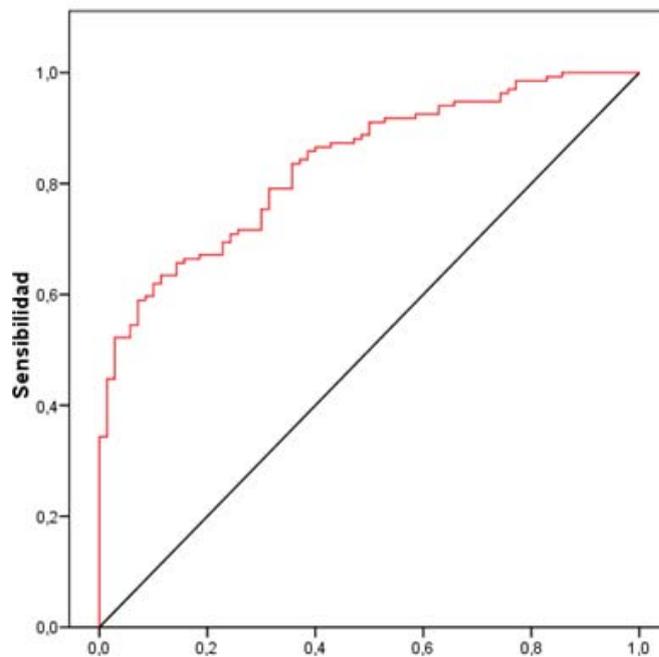


Fig. 92: Fórmula propuesta y Curva ROC del modelo

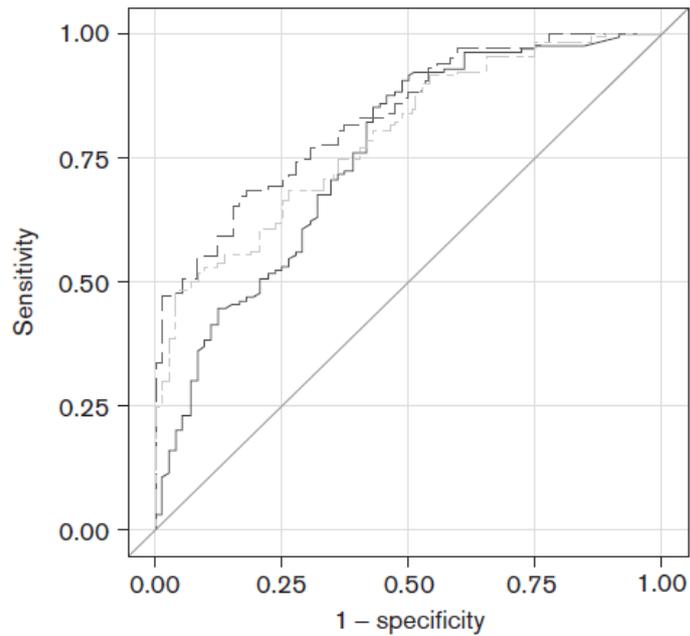
Area bajo la curva	Error estándar	p	I.C. al 95%	
0.84	0,027	,000	Inferior	Superior
			0,782	0,89

6.4.2.- Evaluación de la capacidad de predicción de la evolución de cirrosis de los índices Forns, APRI y NIHCED.

El objetivo fue conocer si los valores previos de los tres índices (Forns, APRI y NIHCED) pueden predecir la evolución hacia cirrosis. Se han realizado las curvas ROC de los índices Forns, APRI y NIHCED, y sobre ellas calculamos el mejor punto de corte para detectar cirrosis. A partir de los resultados de las curvas ROC se obtuvieron los valores que maximizan la sensibilidad y la especificidad de cada uno de los modelos que predice la evolución de la cirrosis.

El punto de corte NIHCED (0 vs > 0), se obtiene una sensibilidad del 41% y una especificidad del 82%, y el AUC fue 0.76 (IC 95%: 0.69-0.83). Para el índice de Forns, el punto de corte (<4.7 vs ≥4.7) tiene una sensibilidad del 75% y una especificidad del 71%, con un AUC fue 0.83 (IC 95%: 0.78-0.89). Por último, en el índice APRI un punto de corte (<0.48 vs ≥ 0.48) da una sensibilidad del 86% y una especificidad del 42%, con un AUC fue 0.79 (IC 95%: 0.73-0.85). **Fig. 93.**

De los 230 pacientes, 84 (36.5%) de ellos tenían un Forns basal < 4.7, y de ellos, 7 pacientes (8.3% de los 84%) desarrollaron F4. De los 230 pacientes, 50 (21.74%) de ellos tenían un APRI<0.48, y de ellos, 6 (12%) desarrollaron F4. De los 230 pacientes, 137 (59.6%) de ellos tenían un NIHCED basal < 0, y de ellos, 22 pacientes (16.1% de los 137%) desarrollaron F4.



ROC curve (area)
 ——— NIHCED (0.7559) - - - - Forns (0.8303)
 ····· APRI (0.7923)

	Punto de Corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	AUC
Forns	≥4.7	75	71	0.83
APRI	≥0.48	86	42	0.79
NIHCED	0	41	82	0.76

	N (%)	Desarrollo F4 (N;%)
<u>Forns</u> basal < 4.7	84 (36.5%)	7 (8.3%)
APRI basal < 0.48	50 (21.74%)	6 (12%)
NIHCED basal < 0	137 (59.6%)	22 (16.1%)

Fig. 93: Curvas ROC de los índices Forns, APRI y NIHCED para predecir desarrollo a cirrosis

D. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

Sobre los 230 pacientes con fibrosis de control, se realizaron curvas de supervivencia por el método Kaplan-Meier para evaluar la evolución en el tiempo a cirrosis y para evaluar la evolución en el tiempo a cirrosis en función de los índices predictivos basales. Además, se ha realizado la curva de supervivencia en pacientes que desarrollaron cirrosis y fueron éxitus.

6.5.1.- Curvas de supervivencia Kaplan-Meier en la evolución a cirrosis.

6.5.1.1. Evolución en el tiempo a cirrosis.

Se realizaron curvas de supervivencia de los 230 pacientes con evaluación de la fibrosis en el período de control. La variable de estado es F0,1,2,3 vs F4 y el tiempo es el transcurrido entre la primera biopsia y la evaluación de control (en años). La mediana (el tiempo en el que el 50% de los sujetos siguen sin desarrollar cirrosis) fue de 14.98 ± 0.56 años (IC 95%: 13.9-16.1 años). **Fig. 94.**

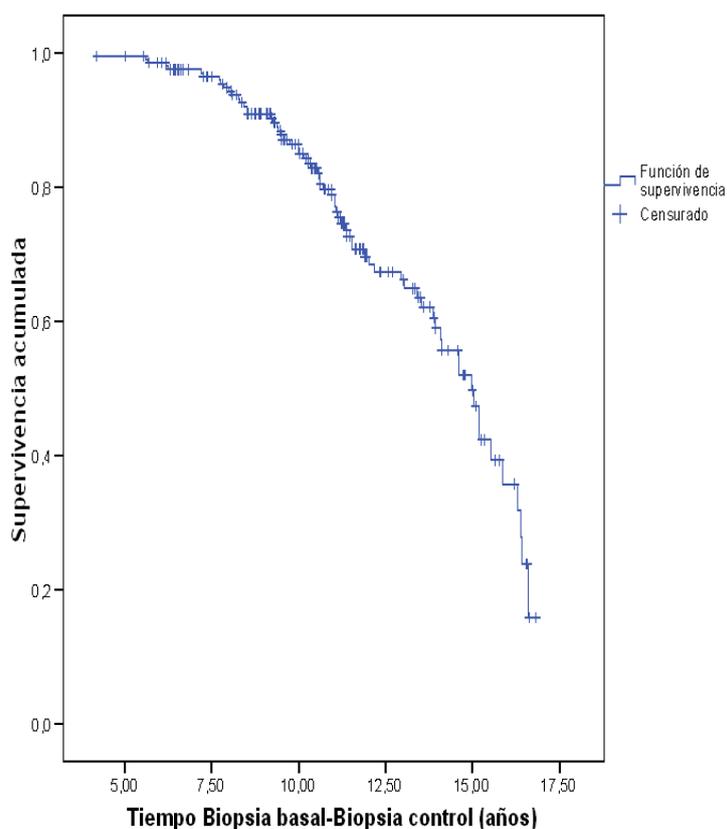


Fig. 94: Curva Kaplan-Meier para evolución a cirrosis

6.5.1.2. Supervivencia en los pacientes que evolucionan a cirrosis.

La variable de estado es F0,1,2,3 vs F4 y el tiempo es el transcurrido entre la primera biopsia y la fecha de éxitus (en años). La curva sólo se realizó sobre pacientes que fallecieron por causa de cirrosis (N=28). La mediana (el tiempo en el que el 50% de los sujetos seguían vivos sin desarrollar cirrosis) fue de 8.05 años \pm 0.65 años (IC 95%: 6.77-9.33 años). **Fig. 95.**

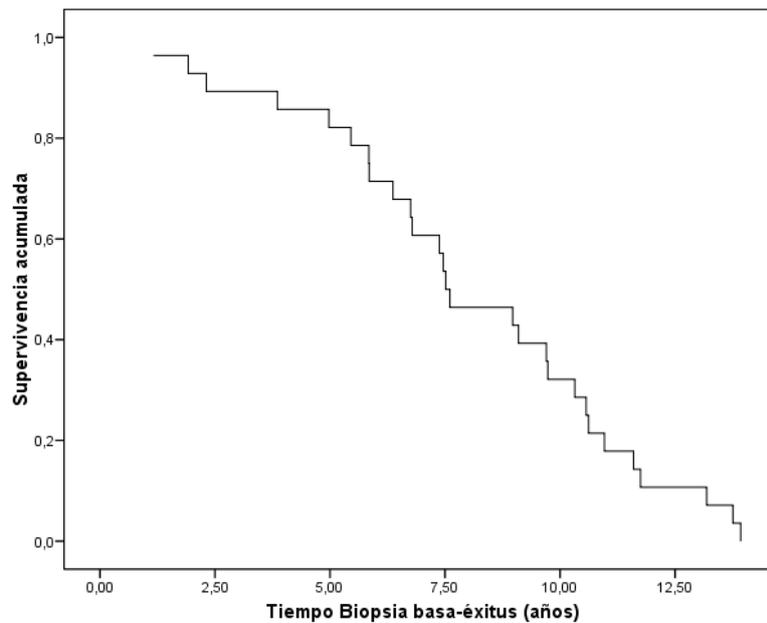


Fig. 95: Curva Kaplan-Meier para supervivencia de los pacientes que desarrollan cirrosis

6.5.1.3. Evolución en el tiempo a cirrosis en función de los índices predictivos basales.

La variable de estado es F0,1,2,3 vs F4 y el tiempo es el transcurrido entre la primera biopsia y la biopsia de control, en función de los índices predictivos según el valor dicotómico que se calculó previamente.

a) Índice Forns.

Con valor <4.7 vs ≥ 4.7 . Del total de los pacientes, 60 de ellos presentaban índice de Forns <4.7 , y 170 pacientes tenían ≥ 4.7 . La $p=0.000$ con $\chi^2 = 34.3$. Los datos de mediana y la curva se pueden ver en la **Fig. 96**.

	Total	Evento (F4)	Mediana	Error típico	IC al 95%
Forns <4.7	60	4	13.02	0.97	11.11-14.94
Forns ≥ 4.7	170	84	14.1	0.56	12.99-15.2

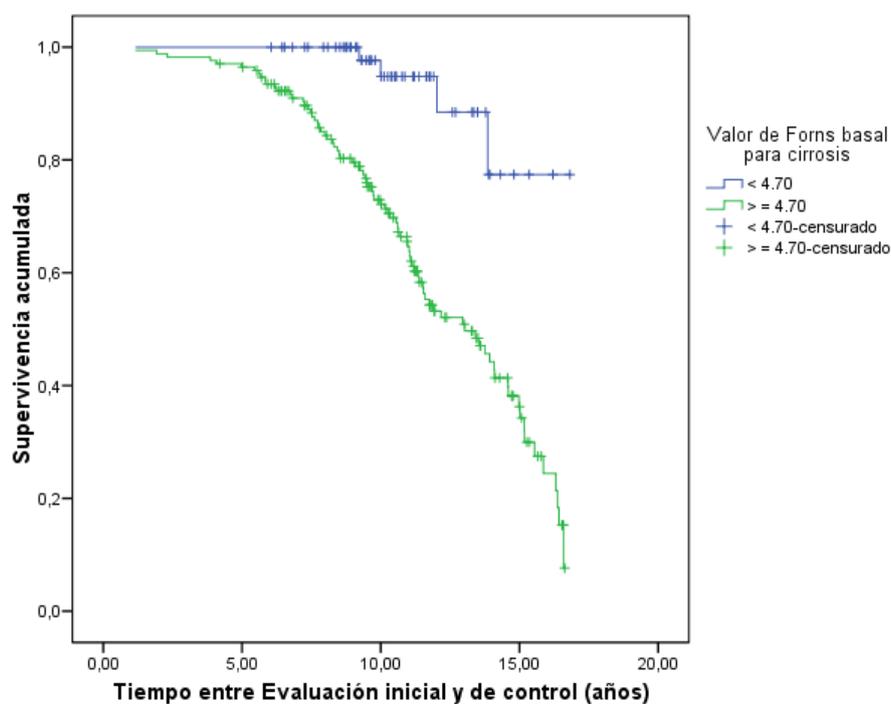


Fig. 96 Curva Kaplan-Meier para evolución a cirrosis según Forns

b) Índice APRI.

Con valor <0.48 vs ≥ 0.48 . Del total de los pacientes, 50 de ellos presentaban índice de APRI <0.48 , y 180 pacientes tenían ≥ 0.48 . La $p=0.000$ con $\chi^2 = 18.65$. Los datos de mediana y la curva se pueden ver en la **Fig. 97**.

	Total	Evento (F4)	Mediana	Error típico	IC al 95%
APRI <0.48	50	6	13.86	0.53	12.82-14.9
APRI ≥ 0.48	180	82	14.1	0.56	12.99-15.2

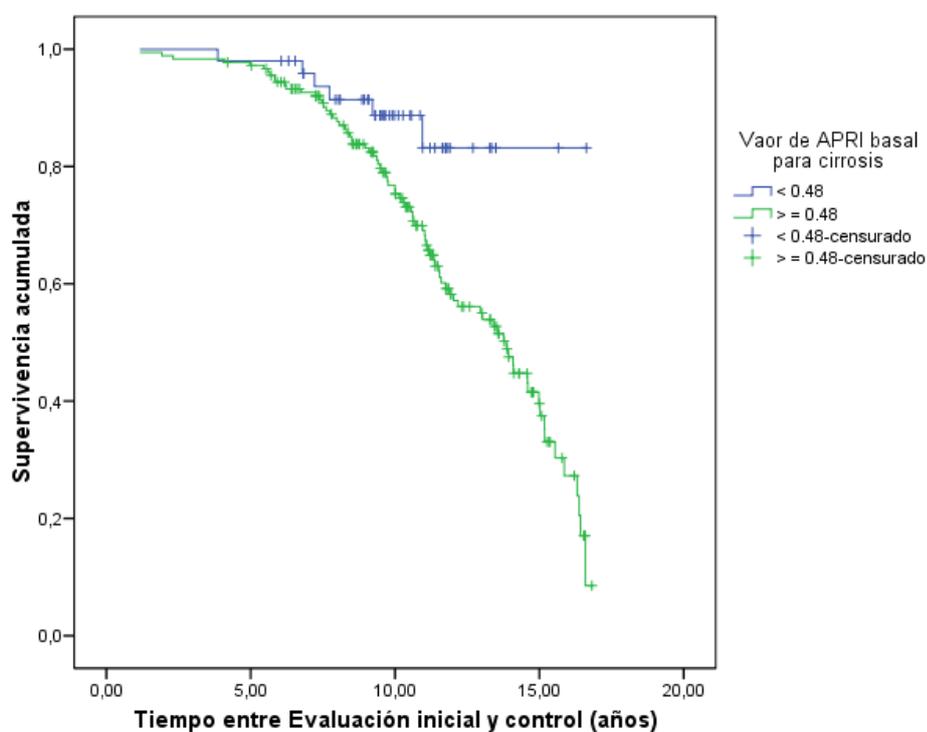


Fig. 97: Curva Kaplan-Meier para evolución a cirrosis según APRI

c) Índice NIHCED

Con valor = 0 vs >0. Del total de los pacientes, 138 de ellos presentaban índice de NIHCED =0 y 92 pacientes tenían >0. La $p=0.000$ con $\chi^2=68.11$. Los datos de mediana y la curva se pueden ver en la **Fig. 98**.

	Total	Evento (F234)	Mediana	Error típico	IC al 95%
NIHCED =0	138	23	16.6	0.0	9.99-12.1
NIHCED >0	92	65	11.03	0.52	12.99-15.19

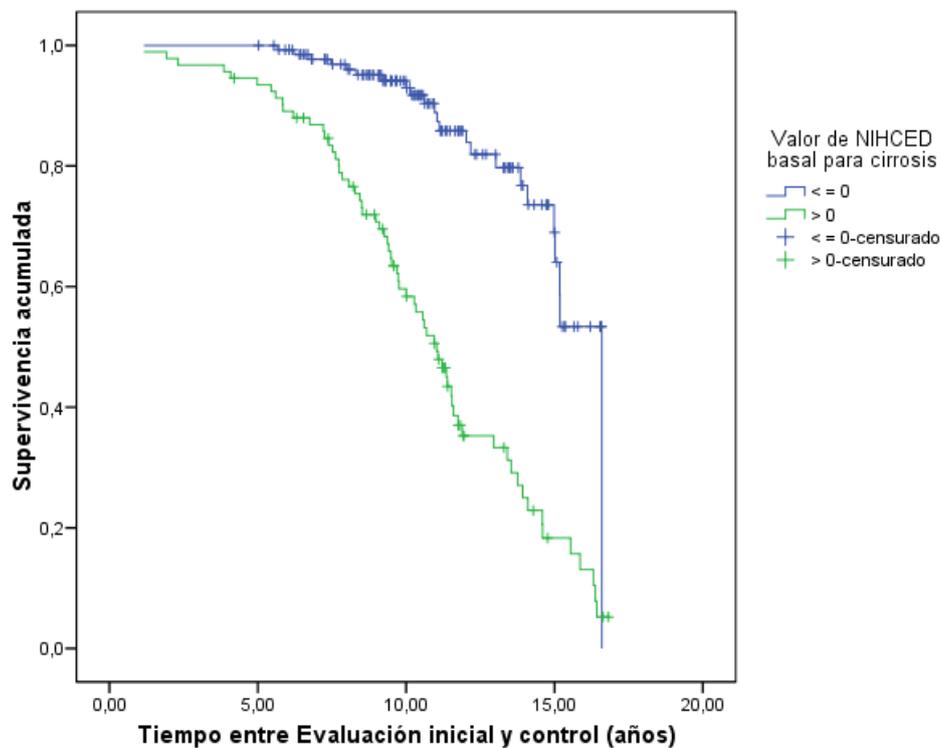


Fig. 98: Curva Kaplan-Meier para evolución a cirrosis según NIHCED

6.5.2.- Curvas de supervivencia Kaplan-Meyer para la mortalidad.

6.5.2.1. Supervivencia global.

La variable de estado es la mortalidad global, incluyendo todas las causas de mortalidad (cirrosis –insuficiencia hepatocelular-, CHC, HDA, infecciones/sepsis, cáncer –diferente a CHC-, cardiovascular, y otros). A los 5 años, la supervivencia fue del 96.9% (9 pacientes fallecidos), y a los 10 años, la supervivencia fue del 88.62% (33 fallecidos). A los 16.82 años, la supervivencia fue del 84.14%, con el 100% de los fallecidos (46 pacientes). De los pacientes vivos incluidos en el estudio, el 27.2% (61 casos) habían desarrollado cirrosis, y el 72.8% (183 casos) persistían en estado de hepatitis crónica. **Fig. 99.**

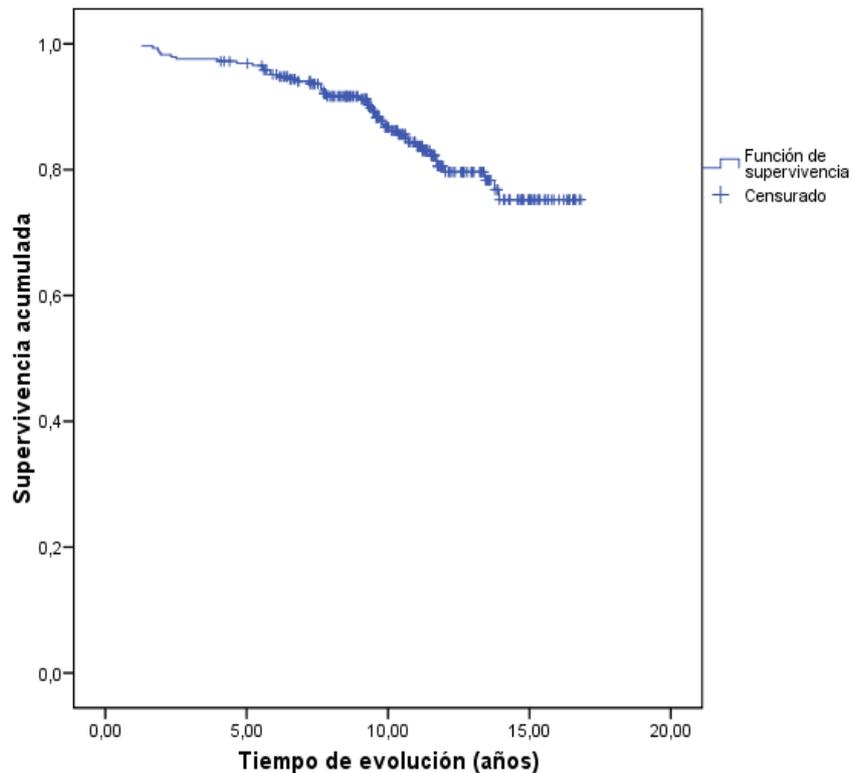


Fig. 99: Curva de supervivencia global

6.5.2.2. Supervivencia en las complicaciones asociadas al VHC.

La variable de estado son la mortalidad por cirrosis (insuficiencia hepatocelular), mortalidad por CHC y mortalidad por HDA. Por tanto, sólo 17 pacientes (5.86) de 290 murieron consecuencia a las complicaciones asociadas a la cirrosis. **Fig. 100.**

	Cirrosis	CHC	HDA
5 años	85%	80%	50%
10 años	43%	45%	100%
Mortalidad del 100%	14 años	11.7 años	10 años
Media +/-SD	9.5+/-1.62 años	8.5 +/- 1.3 años	5.99 +/- 1.7 años
Número de fallecidos	7	6	4

Fig. 100: Supervivencia en las complicaciones asociadas a VHC

Al comparar los resultados de los índices no invasivos de estos 17 pacientes con el resto de sujetos no fallecidos y con los 3 índices calculados, encontramos las tasas de mortalidad más altas (18,5%) en los pacientes con un NIHCED >0 y aquellos con un índice de Forns ≥ 4.7 (11,2%); la mortalidad entre los pacientes con un APRI ≥ 0.48 (8,9%) fue ligeramente más alto que en el global. En los modelos de regresión logística, el área bajo la curva ROC fue de 0.83 para NIHCED, 0.86 para Forns, y 0.79 para APRI. **Fig. 101.**

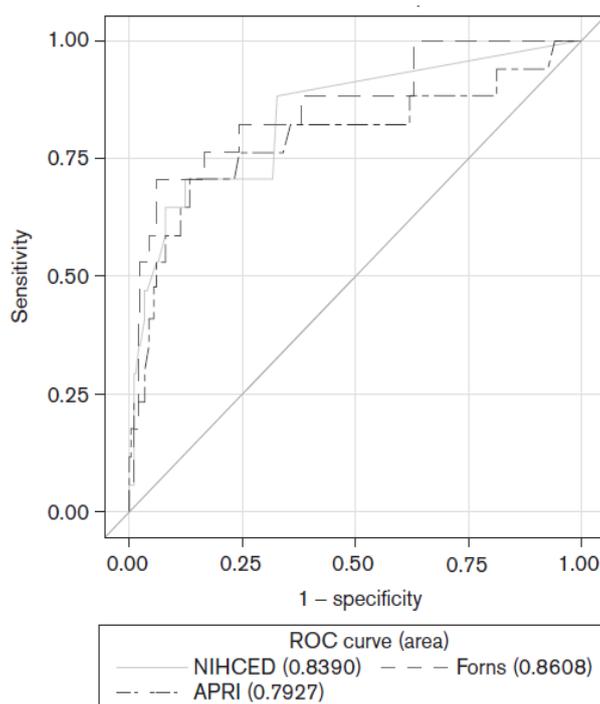


Fig. 101: Curvas ROC de los tres métodos para predecir mortalidad en la hepatitis C.

E. ÁRBOLES DE DECISIÓN DE LOS ÍNDICES DE FIBROSIS PARA EL DIAGNÓSTICO DE CIRROSIS

Hemos realizado un árbol de decisión para el diagnóstico de cirrosis, empleando de manera secuencial los índices de fibrosis.

Para su realización, se ha empleado el modelo que más alto número de pacientes son correctamente clasificados, usando los índices como variables continuas. El modelo clasifica correctamente al 92.3% de los pacientes, con una S del 84.8% y una E del 95.8%.

Para ello, se usó como índice principal predictor el índice NIHCED. Del 100% de los pacientes, el 28.8% (N=60) de los pacientes al inicio del árbol tienen un índice NIHCED ≤ 6 , y de ellos, el 100% (N=60) presentan una fibrosis de control F0,1,2,3. El 30.3% tienen NIHCED ($6 < 13$) y de los cuales, el 92% tiene fibrosis de control F0,1,2,3. El 21.2% de los pacientes tienen un NIHCED ($\geq 13, 30$), de los cuales, el 54,5% tienen una fibrosis F0,1,2,3 por lo que habría que aplicar el índice Forns. Finalmente, el 19.7% de los pacientes tienen un NIHCED > 30 , y de ellos, el 100% de los pacientes tendrían una fibrosis F4. Empleando este árbol, nos hubiésemos ahorrado 126 biopsias (88.73% de las 142 biopsias realizadas). **Fig. 102.**

ÁRBOL DE DECISIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE CIRROSIS MEDIANTE EL USO DE ÍNDICES PREDICTIVOS

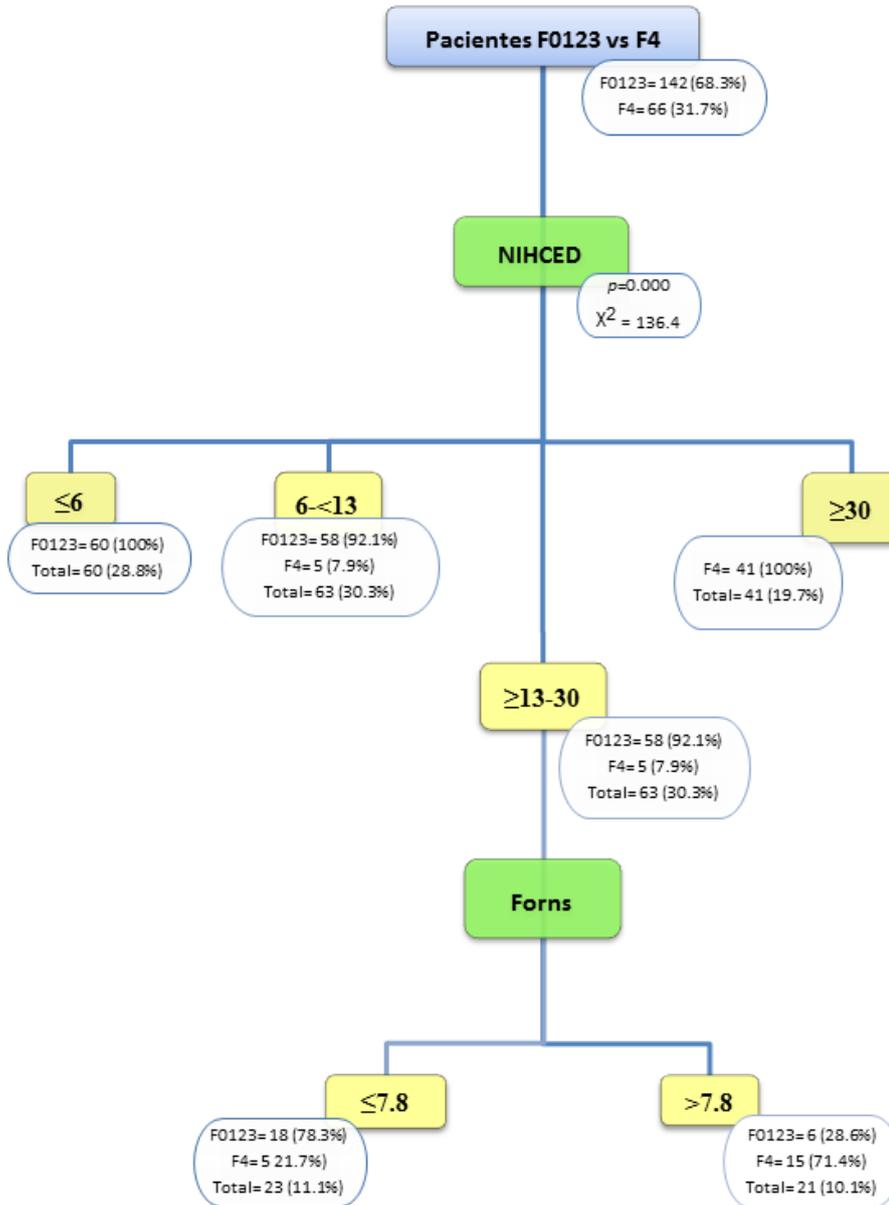


Fig. 102: Árbol de decisión para el diagnóstico de cirrosis, empleado los índices no invasivos de forma secuencial.

6.3.- DISCUSIÓN

Este estudio demuestra que la aplicación de métodos no invasivos como el NIHCED, Forns y APRI es útil no solo para detectar aquellos pacientes que han desarrollado cirrosis hepática sino también para predecir los pacientes con mayor riesgo de evolución a cirrosis hepática, siendo hasta ahora uno de los pocos estudios que lo han demostrado. A raíz de nuestro estudio se ha podido generar un modelo de regresión logística, a partir del cual se ha creado una fórmula para el pronóstico de evolución a cirrosis de forma individual en un paciente y en un período concreto de tiempo que hasta ahora no se ha publicado previamente

Uno de los valores más importante de este estudio es el tiempo de seguimiento de los pacientes, ya que hasta ahora, existen pocos estudios con tan largo tiempo de control^{324, 362, 363, 364, 365}. Hemos encontrado estudios de seguimiento de entre 5 y 10 años. En nuestro caso, se trata de un estudio prospectivo de 10.95 años \pm 2.95 de seguimiento, siendo el hasta ahora más largo realizado por un solo centro. No obstante el número de pacientes es menor que en otros multicéntricos (entre 400 y 3500 pacientes).

El estudio más similar al nuestro es del Chinnaratha M et al³⁶³. Se trata de un estudio publicado en Mayo de 2014 y realizado en un hospital terciario de Australia, sobre una cohorte final de 406 pacientes controlados durante 10 años. En este estudio, sólo una parte de los pacientes (N=148) tenían una biopsia hepática previa, a diferencia de nuestro estudio, en el que todos los pacientes (N=290) tenían una biopsia previa. Por otro lado, en el estudio de Chinnaratha no existe una biopsia de control, a diferencia del nuestro. Los objetivos del estudio fue conocer si ciertos marcadores de fibrosis hepática (HepaScore®, FIB-4 y APRI) podían ser usados como predictores de mortalidad global y de la asociada a enfermedad hepática, en comparación con la biopsia, así como si estos marcadores también podían predecir la descompensación cirrótica y el desarrollo de carcinoma hepatocelular. La tasa de supervivencia global fue similar a nuestro estudio, tanto a los 5 (93.8% vs 96.9% en nuestro estudio) como a los 10 años (84.3% vs 88.62% en nuestro estudio).

Además, los autores usaron los índices no invasivos como predictores de mortalidad global, siendo sólo predictor el índice HepaScore®, y como predictores de mortalidad asociada a complicaciones propias de la enfermedad hepática, de nuevo, siendo sólo el índice HepaScore® predictor.

En nuestro estudio, los 3 índices fueron predictores de mortalidad asociada a enfermedad hepática, con AUROC más alto para el índice Forns (0.86) seguido del índice NIHCED (0.83).

Otro de los valores importantes, es que hay aún menos estudios que comparen de forma prospectiva los resultados de 2 biopsias hepáticas^{12, 366, 367}. En el estudio de Ryder¹² fueron estudiados de forma prospectiva 214 pacientes durante 9.5 años (la media de tiempo entre biopsia y biopsia fue de 2.5 años, con rango entre 1.9 y 9.4 años). A diferencia de nuestro estudio, en este caso había pacientes con infección activa y pasada por VHB. Respecto de los pacientes con hepatitis C, al igual que en el nuestro no había relación entre la progresión de la fibrosis y el genotipo, siendo la edad en que se realizó la primera biopsia ($p=0.001$), la edad estimada de la primoinfección ($p=0.05$) y la duración estimada de la misma ($p=0.04$), los factores significativos en el análisis univariado. En el multivariado, el grado de fibrosis de la primera biopsia y la edad a la que se realizó fueron los únicos datos estadísticamente significativos., lo cual sugiere a los autores, que la afectación por la infección por VHC no es lineal y que puede ser más fibrogénica con la edad avanzada del paciente, no tanto por la duración de la infección.

A diferencia del anterior estudio en el análisis multivariado de nuestro estudio, las variables con significación estadística fueron, el ser diabético, partir de F3 en la biopsia inicial, el genotipo 1 y tener esplenomegalia en la ecografía inicial.

Uno de los resultados más importantes de nuestro estudio es que los métodos no invasivos pueden predecir la progresión a cirrosis. Hasta la fecha, pocos estudios han validado métodos no invasivos para predecir la progresión a cirrosis en pacientes con hepatitis crónica C^{323, 324, 362, 363}.

En nuestro estudio, 6 pacientes fueron diagnosticados de CHC (2.1%), lo cual concuerda con la bibliografía previa (1-4%)⁶². Tres de ellos se trataban de pacientes que habían perdido controles en la unidad y por el médico de familia y que fueron reclutados para el estudio, con los dos índices positivos para cirrosis y con una ECO donde se diagnosticó el CHC, estando los 3 asintomáticos y sin descompensaciones previas de otro tipo. Dos de ellos, fueron éxitus.

Nuestro resultados muestran que los pacientes con una puntuación de Sabadell's NIHCED mayor que cero están en riesgo de desarrollar cirrosis. El Sabadell's NIHCED

contiene siete variables. La presencia de cualquiera de estas variables representa un factor de riesgo para el desarrollo de cirrosis en el futuro. De hecho, todas estas variables son signos orientativos de cirrosis. Y como hemos visto anteriormente, los estudios realizados previamente avalarían la conclusión de que la edad es uno de los principales factores que influiría en la progresión de la enfermedad^{357, 358, 359, 360}, y en el Sabadell's NIHCED la edad mayor de sesenta se considera un factor de riesgo.

Otro resultado destacable de nuestro estudio es que se han comparado tres métodos no invasivos en la predicción de cirrosis (índice de Forns, APRI y NIHCED) siendo el índice Forns con mayor poder predictivo.

El período medio de seguimiento de nuestro estudio es de 11 años muestra que estos métodos no invasivos son útiles para el seguimiento prospectivo de los pacientes con hepatitis C crónica.

La variabilidad en la progresión de la hepatitis crónica C es notable e influenciado por varios factores^{368, 369}. Esta situación es dinámica y en ella se enfrentan dos procesos extremos: la fibrogénesis y la fibrolisis³⁷⁰. Esto conlleva una acumulación de colágeno en el tejido, así como de otras proteínas de la matriz extracelular. La mayoría de estudios de seguimiento de la fibrosis hepática utilizan modelos longitudinales en los que se asume que la progresión de la fibrosis es un proceso lineal⁷⁷. Sin embargo, es muy probable que la situación permanezca estable durante largos períodos y que se produzcan reactivaciones temporales en las que el aumento de la actividad inflamatoria provoque la progresión de la fibrosis³⁷¹.

Otro resultado importante, es que hemos podido generar un modelo de regresión logística y generar una fórmula útil para el pronóstico de cirrosis de forma individual en un paciente en concreto y en un período concreto de tiempo que nosotros mismos marquemos. El modelo clasifica correctamente al 85.8% de los pacientes, con una sensibilidad del 69.8% y una especificidad del 92.2%, con una AUC de 0.84 (IC 95%: 0.782-0.89). Las variables con más alto OR (no incluidos los índices Forns, APRI ni NIHCED), son ser diabético, tener F3, el genotipo 1, tener esplenomegalia, el tiempo transcurrido entre la primera y segunda visita y la edad, lo cual coincide con estudios previos.

No tenemos constancia de que hasta ahora se hayan generado modelos que pronostiquen la evolución a cirrosis de un paciente concreto, con unas tan altas AUC.

Otro resultado importante de nuestro estudio es que los tres índices son útiles en la predicción de la probabilidad de mortalidad debida a la hepatitis crónica C. Nuevamente el índice de Forns es el que presenta un mayor poder de predicción de mortalidad.

Hasta el momento, algunos estudios también han mostrado la utilidad de los índices no invasivos, tanto directos como indirectos o mixtos, en el diagnóstico de fibrosis significativa y/o cirrosis³⁴⁸. Entre algunos índices indirectos, tenemos el índice Fibroindex¹⁶³, para el diagnóstico de fibrosis significativa, realizado con una N=360 pacientes con biopsias con longitud media de 10 mm y una sensibilidad que oscila entre 30-40%, una especificidad de 97% y un AUC 83%. El índice HALT-C o Lok index¹⁶⁵, basada en una cohorte de 1141 pacientes, para diagnóstico de cirrosis, con una S 47%, una E 92% y un AUC del 81%, y biopsias con una longitud media de 1.84 cm. El FIB-4¹⁹², para el diagnóstico de fibrosis significativa, con una N=874 pacientes, con una S entre 38%-74%, una E entre 81-98% y un AUC del 85%, y en este caso, no se aportó las medidas de la biopsia. El King score¹⁹³ con una N=923, con biopsias con > 10 tractos portales, para el diagnóstico de fibrosis significativa (S 70%-84% y E 85-70% y AUC 89%) y cirrosis (S 86%, E 80% y AUC 94%). Como se puede ver, con valores de sensibilidad, especificidad y AUC similares a los obtenidos por nuestro grupo, tanto para el diagnóstico de fibrosis significativa como de cirrosis.

Nuestro estudio también ha permitido crear un algoritmo diagnóstico a partir de los tres métodos no invasivos para evaluar el riesgo de evolución a cirrosis con el tiempo en función de las variables introducidas. Hasta la fecha existen múltiples estudios sobre el uso de dos o más métodos no invasivos para aumentar la precisión diagnóstica, incluyendo el uso de FibroScan®^{184, 191, 194, 199, 200, 201, 202, 204, 205, 206, 207, 208, 289, 290, 291, 292, 293, 372, 373, 374}, sin embargo, ninguno de ellos ha podido crear como en nuestro caso un algoritmo pronóstico del riesgo de evolucionar a cirrosis hepática con el tiempo. Entre los estudios más destacados en cuanto a la realización de algoritmos diagnósticos está, por el ejemplo, Sebastiani y et al²⁰² con el algoritmo SAFE (sequential algorithm for fibrosis evaluation) combina de forma secuencial el test APRI y el Fibrotest®, identificando con una fiabilidad del 94% al 50% de los pacientes con fibrosis significativa (F2-4) usando el índice APRI como test de screening seguido del uso del FibroTest® en los casos en los

que el APRI no pueda clasificarlos, dejando la biopsia hepática sólo en los casos en que los test cataloguen al paciente con fibrosis F0-F1. Además, usando diferente cut-off, identifica al 70% de los pacientes con cirrosis con una precisión diagnóstica del 95%, evitando la biopsia en el 60-70% de los casos ²¹⁵. Estos datos fueron validados en un estudio multicéntrico con más de 2.000 pacientes con VHC ¹⁶³. Con ello, se podían evitar el 50% de las biopsias hepáticas para identificar fibrosis significativa y evitarse más de 80% de las biopsias para identificar cirrosis.

En nuestro estudio, hemos generado un algoritmo diagnóstico, para el diagnóstico de cirrosis. Para su realización, se han generado un modelo en forma de árbol de decisión, con el que el más alto número de pacientes son correctamente clasificados, usando los índices como variables continuas. Con nuestro modelo, nos hubiésemos ahorrado 126 biopsias (88.73% de las 142 biopsias realizadas).

Como se ha demostrado, los marcadores serológicos son altamente sensibles y específicos para descartar fibrosis. Además, la precisión de los tres métodos no invasivos como se evidencia por el área bajo la curva ROC son similares a los reportados en otros estudios. En nuestro estudio, los métodos no invasivos ahorran la biopsia hepática en 17 pacientes (8.4%) descartando fibrosis significativa y en 8 pacientes (3.95%) mediante la confirmación de la cirrosis mediante la clasificación simultánea en los tres índices, Forns, APRI y Sabadell's NIHCED. Dado que el número de pacientes en los que los tres métodos no invasivos concuerdan, bien para descartar fibrosis significativa, como diagnóstico de cirrosis, y así evitan la biopsia hepática era pequeño (25 pacientes, 8.62%), el posible sesgo de incluir en el estudio de evolución pacientes sin biopsia de control, es muy baja.

Aunque pueda parecer sorprendente que sólo el 12% de las biopsias de seguimiento se podría evitar, es importante recordar que los métodos no invasivos son más eficaces en los extremos de la escala, en decir, para el diagnóstico de cirrosis. En nuestro estudio, el 76% de los pacientes tenían fibrosis intermedia (entre F1 y F3), y esto podría explicar los resultados discordantes entre los métodos no invasivos.

Una limitación de nuestro estudio es el uso de la biopsia hepática como el patrón de oro. Esta limitación es evidente en los 17 pacientes cuyo estado de fibrosis mejora desde fibrosis significativa a fibrosis leve entre la primera y la segunda biopsia. La mayoría de los pacientes cuya puntuación de fibrosis ha mejorado se habían sometido a

tratamiento antiviral ¹³⁸, pero ninguno había logrado una RVS, aunque estos resultados no alcanzaron significación estadística probablemente debido al pequeño número de pacientes.

El tejido recogido en una muestra de biopsia representa 1/50.000 del parénquima hepático. En nuestro estudio, sólo tenemos datos de la calidad de las biopsias de seguimiento. La media de diámetro fue de 0.13 cm \pm 0.14 (el estándar recomienda 1.6 cm); la media de la longitud de la muestra fue de 1.41 cm \pm 0.31 (el estándar recomiendan 2-3 cm) y la media de los espacios porta fue de 10.54 \pm 3.4 (el estándar recomiendan entre 10-11 espacios porta), lo cual avala la buena calidad de las biopsias de seguimiento recogidas.

Otra limitación de nuestro estudio es que no usamos la elastografía transitoria para definir el estado de fibrosis hepática ³⁷⁵. Usando esta técnica de ultrasonido en combinación con el Sabadell's NIHCED, podría haber mejorado el rendimiento de nuestro índice no invasivo. Sin embargo, esta técnica no estaba disponible en nuestro centro durante el período de estudio. No obstante, una de las principales ventajas de estos métodos serológicos no invasivos es que pueden ser utilizados en cualquier entorno clínico, de forma rápida y fácil para el seguimiento de pacientes con infección por VHC.

Por último, la introducción de agentes antivirales directos ha aumentado en el último año la tasa de respuesta virológica sostenida en pacientes con hepatitis crónica C y debido a los escasos efectos secundarios este tratamiento puede ser utilizado en poblaciones de pacientes como cirrosis hepática descompensada, pacientes con patología psiquiátrica, etc... que antes no podían ser tratados. En el momento actual, y dado que los agentes antivirales directos son muy caros, aún es necesario un buen cribaje de fibrosis hepática para seleccionar pacientes para el tratamiento, que ha de ser priorizado en pacientes con METAVIR F3-F4 (A1) y está justificado en pacientes con fibrosis moderada (METAVIR F2) (A2) ^{376, 377, 378}. Por lo tanto, la evaluación y predicción de la fibrosis hepática en pacientes con hepatitis C crónica sigue siendo importante ³⁷⁹.

En conclusión, los métodos no invasivos indirectos APRI, Forns y Sabadell's NIHCED podrían ayudar a detectar pacientes con hepatitis C crónica en riesgo de progresión a cirrosis con altas tasas de sensibilidad, especificidad, VP y VPN. Además de la posibilidad de predecir la evolución a fibrosis significativa y a cirrosis en un período

concreto de tiempo, con una alta exactitud empleando las fórmulas generadas mediante el estudio multivariado

VII. CONCLUSIONES

7.- CONCLUSIONES

1. El Sabadell's NIHCED es un índice no invasivo sensible, específico y con buena exactitud diagnóstica para la detección de fibrosis significativa en pacientes con hepatitis crónica por VHC.
2. El Sabadell's NIHCED incorpora en su puntuación datos ecográficos que aportan información adicional.
3. El índice Forns, el índice APRI y el índice de NIHCED son índices sensibles y específicos y con buena exactitud diagnóstica para la detección de cirrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica por VHC. El índice de Forns presenta una mayor calidad diagnóstica para detectar cirrosis hepática.
4. El índice de Forns, el APRI y el índice NIHCED son sensibles, específicos y con buena exactitud diagnóstica para predecir la progresión a cirrosis de los pacientes con hepatitis crónica por VHC, si bien el índice de Forns presenta una mayor precisión para predecir la progresión.
5. El índice de Forns, el APRI y el índice NIHCED son sensibles, específicos y con buena exactitud diagnóstica para predecir la mortalidad global en los pacientes con hepatitis crónica por VHC presentando una mayor exactitud el índice de Forns.
6. El índice de Forns, el APRI y el índice NIHCED son sensibles, específicos y con buena exactitud diagnóstica para predecir la mortalidad secundaria a las complicaciones derivadas de la hepatitis crónica por VHC. El índice de Forns obtiene mayor exactitud diagnóstica.
7. El índice de NIHCED es también sensible, específico y con buena exactitud diagnóstica para predecir mortalidad global y por hepatitis crónica por VHC.
8. La elaboración de un árbol de decisión basado en el índice Sabadell's NIHCED y el índice Forns para el diagnóstico de cirrosis tiene una alta sensibilidad y especificidad, evitando un gran número de biopsias hepáticas.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

8.- BIBLIOGRAFÍA

1. Farci P, Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome [Science 1989;244:359-362]. *J Hepatol.* 2002;36(5):582-585.
2. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology.* 2011;53(3):726-736.
3. Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L, et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet.* 1989;2(8658):294-297.
4. Esteban JI, Gonzalez A, Hernandez JM, et al. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med.* 1990;323(16):1107-1112.
5. El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis.* 2001;5:87–107
6. Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, et al. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. The GERMIVIC. Groupe d'Etude et de Recherche en Medecine Interne et Maladies Infectieuses sur le Virus de l'Hepatite C. *Medicine (Baltimore).* 2000;79(1):47-56.
7. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology.* 2011;55(2):245-264.
8. Alberti A, Vario A, Ferrari A, Pistis R. Review article: chronic hepatitis C--natural history and cofactors. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22 Suppl 2:74-78.
9. Cholongitas E, Senzolo M, Standish R, et al. A systematic review of the quality of liver biopsy specimens. *Am J Clin Pathol.* 2006;125(5):710-721.

10. Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Adults Infected with Hepatitis C Virus, 2015
11. Hoefs JC, Shiffman ML, Goodman ZD, Kleiner DE, Dienstag JL, Stoddard AM. Rate of progression of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C: results from the HALT-C Trial. *Gastroenterology*. 2011;141(3):900-908.e901-902.
12. Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut*. 2004;53(3):451-455.
13. Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology*. 2008;48(2):418-431.
14. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. *J Viral Hepat*. 1999;6(1):35-47.
15. WHO | Hepatitis C. WHO. 2013.
16. HCV np guide SL DL final.doc - Hepc.pdf. 2014; <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/Hepc.pdf>.
17. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(2):107-115.
18. Negro F, Alberti A. The global health burden of hepatitis C virus infection. *Liver Int*. 2011;31 Suppl 2:1-3.
19. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2007;13(17):2436-2441.
20. Sola R, Cruz De Castro E, Hombrados M, et al. Prevalence of hepatitis B and hepatitis C viruses in different counties of Catalonia, Spain: cross-sectional study. *Med Clin (Barc)*. 2002;119(3):90-95.

21. Krief CpEBKGdESGdESB. Macro-estudio prospectivo Delphi sobre costes sociales y económicos de la hepatitis C. 2003.
22. Dominguez A, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Salleras L. Community-based seroepidemiological survey of HCV infection in Catalonia, Spain. *J Med Virol.* 2001;65(4):688-693.
23. Riestra S, Fernandez E, Leiva P, Garcia S, Ocio G, Rodrigo L. Prevalence of hepatitis C virus infection in the general population of northern Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001;13(5):477-481.
24. Alberti A, Chemello L, Benvegna L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol.* 1999;31 Suppl 1:17-24.
25. Martinez-Bauer E, Forns X, Armelles M, et al. Hospital admission is a relevant source of hepatitis C virus acquisition in Spain. *J Hepatol.* 2008;48(1):20-27.
26. Bruguera M, Forns X. Hepatitis C in Spain. *Med Clin (Barc).* 2006;127(3):113-117.
27. Martinez SM, Delgado MB, Castroagudin JF, Aguilera A. High rate of infection with hepatitis C virus genotype 4 in a district of galicia, Spain. *J Clin Microbiol.* Vol 43. United States 2005:5403-5404.
28. Forns X, Martinez-Bauer E, Feliu A, et al. Nosocomial transmission of HCV in the liver unit of a tertiary care center. *Hepatology.* 2005;41(1):115-122.
29. Cornberg M, Razavi HA, Alberti A, et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada and Israel. *Liver Int.* 2011;31 Suppl 2:30-60.
30. Lumbreras B, Jarrin I, del Amo J, et al. Impact of hepatitis C infection on long-term mortality of injecting drug users from 1990 to 2002: differences before and after HAART. *Aids.* 2006;20(1):111-116.
31. EMCDDA | National report 2011: Spain. 2014; <http://www.emcdda.europa.eu/html.cfm/index191736EN.html>.

32. Echevarria JM, Leon P, Pozo F, Avellon A. Follow-up of the prevalence of hepatitis C virus genotypes in Spain during a nine-year period (1996-2004). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2006;24(1):20-25.
33. Buti M, San Miguel R, Brosa M, et al. Estimating the impact of hepatitis C virus therapy on future liver-related morbidity, mortality and costs related to chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2005;42(5):639-645.
34. Garcia-Fulgueiras A, Garcia-Pina R, Morant C, Garcia-Ortuzar V, Genova R, Alvarez E. Hepatitis C and hepatitis B-related mortality in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009;21(8):895-901.
35. Miller RH, Purcell RH. Hepatitis C virus shares amino acid sequence similarity with pestiviruses and flaviviruses as well as members of two plant virus supergroups. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(6):2057-2061.
36. Lindenbach, B, Rice C. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature* 2005; 436: 933-938
37. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis.* 2000;20(1):1-16.
38. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology.* 1994;19(5):1321-1324.
39. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis.* 1995;15(1):41-63.
40. Crespo J, Carte B, Lozano JL, et al. Hepatitis C virus recurrence after liver transplantation: relationship to anti-HCV core IgM, genotype, and level of viremia. *Am J Gastroenterol.* 1997;92(9):1458-1462.
41. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13(2):223-235.

42. Nousbaum JB, Pol S, Nalpas B, Landais P, Berthelot P, Brechot C. Hepatitis C virus type 1b (II) infection in France and Italy. Collaborative Study Group. *Ann Intern Med.* 1995;122(3):161-168.
43. Alonso Alonso P, Orduna A, San Miguel A, et al. Relation of hepatitis C virus genotypes to risk factors and hepatic disease in Spanish patients. *Clin Microbiol Infect.* 1997;3(6):647-652.
44. Pawlotsky JM, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, et al. Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. *J Infect Dis.* 1995;171(6):1607-1610.
45. Roffi L, Ricci A, Ogliari C, et al. HCV genotypes in Northern Italy: a survey of 1368 histologically proven chronic hepatitis C patients. *J Hepatol.* 1998;29(5):701-706.
46. Tokita H, Okamoto H, Luengrojanakul P, et al. Hepatitis C virus variants from Thailand classifiable into five novel genotypes in the sixth (6b), seventh (7c, 7d) and ninth (9b, 9c) major genetic groups. *J Gen Virol.* 1995;76 (Pt 9):2329-2335.
47. Sandres-Saune K, Deny P, Pasquier C, Thibaut V, Duverlie G, Izopet J. Determining hepatitis C genotype by analyzing the sequence of the NS5b region. *J Virol Methods.* 2003;109(2):187-193.
48. Tellez-Castillo CJ, Gil-Fortuno M, Pardo Serrano FJ, Palau-Canos A, Ripolles Vilar V. [Arising HCV genotype in Castellon, Spain]. *Rev Esp Enferm Dig.* 2008;100(1):62.
49. Farci P, Alter HJ, Wong DC, et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees after antibody-mediated in vitro neutralization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(16):7792-7796.
50. Lai ME, Mazzoleni AP, Argioli F, et al. Hepatitis C virus in multiple episodes of acute hepatitis in polytransfused thalassaemic children. *Lancet.* 1994;343(8894):388-390.

51. Payen JL, Izopet J, Barange K, Puel J, Selves J, Pascal JP. [Hepatitis C virus reinfection after an intravenous drug injection]. *Gastroenterol Clin Biol*. Vol 22. France 1998:469-470.
52. Asselah T, Vidaud D, Doloy A, et al. Second infection with a different hepatitis C virus genotype in a intravenous drug user during interferon therapy. *Gut*. 2003;52(6):900-902.
53. Grebely J, Pham ST, Matthews GV, et al. Hepatitis C virus reinfection and superinfection among treated and untreated participants with recent infection. *Hepatology*. 2012;55(4):1058-1069.
54. Ogata N, Alter HJ, Miller RH, Purcell RH. Nucleotide sequence and mutation rate of the H strain of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(8):3392-3396.
55. Amoroso P, Rapicetta M, Tosti ME, et al. Correlation between virus genotype and chronicity rate in acute hepatitis C. *J Hepatol*. 1998;28(6):939-944.
56. Tremolada F, Casarin C, Tagger A, et al. Antibody to hepatitis C virus in post-transfusion hepatitis. *Ann Intern Med*. 1991;114(4):277-281.
57. Hardy NM, Chiao J, Arora N, Mars R, Jenkins SG. Hepatitis C virus in the hemodialysis setting: detecting viral RNA from blood port caps by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Clin Nephrol*. 2000;54(2):143-146.
58. Henderson DK. Managing occupational risks for hepatitis C transmission in the health care setting. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(3):546-568.
59. Martinez-Rebollar M, Larrousse M, Calvo M, et al. [Current status of acute hepatitis C]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(3):210-215.
60. Thorpe LE, Ouellet LJ, Hershow R, et al. Risk of hepatitis C virus infection among young adult injection drug users who share injection equipment. *Am J Epidemiol*. 2002;155(7):645-653.

61. Alter HJ, Seeff LB. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis.* 2000;20(1):17-35.
62. Di Bisceglie AM. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 1997;26(3 Suppl 1):34s-38s.
63. Gumber SC, Chopra S. Hepatitis C: a multifaceted disease. Review of extrahepatic manifestations. *Ann Intern Med.* 1995;123(8):615-620.
64. Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. MULTIVIRC Group. Multidepartment Virus C. *Arthritis Rheum.* 1999;42(10):2204-2212.
65. Nocente R, Ceccanti M, Bertazzoni G, Cammarota G, Silveri NG, Gasbarrini G. HCV infection and extrahepatic manifestations. *Hepatogastroenterology.* 2003;50(52):1149-1154.
66. Sene D, Limal N, Cacoub P. Hepatitis C virus-associated extrahepatic manifestations: a review. *Metab Brain Dis.* 2004;19(3-4):357-381.
67. Agnello V, Chung RT, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med.* 1992;327(21):1490-1495.
68. Ramos-Casals M, Garcia-Carrasco M, Cervera R, et al. Hepatitis C virus infection mimicking primary Sjogren syndrome. A clinical and immunologic description of 35 cases. *Medicine (Baltimore).* 2001;80(1):1-8.
69. Ramos-Casals M, Garcia-Carrasco M, Cervera R, et al. Th1/Th2 cytokine imbalance in patients with Sjogren syndrome secondary to hepatitis C virus infection. *Semin Arthritis Rheum.* 2002;32(1):56-63.
70. Ferri C, Monti M, La Civita L, et al. Hepatitis C virus infection in non-Hodgkin's B-cell lymphoma complicating mixed cryoglobulinaemia. *Eur J Clin Invest.* 1994;24(11):781-784.

71. Simo R, Hernandez C, Genesca J, Jardi R, Mesa J. High prevalence of hepatitis C virus infection in diabetic patients. *Diabetes Care*. 1996;19(9):998-1000.
72. Muhlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B, Sroczynski G, Zeuzem S, Siebert U. HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity, and mortality. *BMC Public Health*. 2009;9:34.
73. Tremolada F, Casarin C, Alberti A, et al. Long-term follow-up of non-A, non-B (type C) post-transfusion hepatitis. *J Hepatol*. 1992;16(3):273-281.
74. Martinez Echeverria A, Rodriguez Gutierrez C, Elizalde I, Zozaya JM. Acute hepatitis C virus infection. *An Sist Sanit Navar*. 2004;27 Suppl 2:59-68.
75. Gruner NH, Gerlach TJ, Jung MC, et al. Association of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells with viral clearance in acute hepatitis C. *J Infect Dis*. 2000;181(5):1528-1536.
76. Lucas M, Ulsenheimer A, Pfafferot K, et al. Tracking virus-specific CD4+ T cells during and after acute hepatitis C virus infection. *PLoS One*. 2007;2(7):e649.
77. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997;349(9055):825-832.
78. Lopez-Labrador FX, Ampurdanes S, Forns X, et al. Hepatitis C virus (HCV) genotypes in Spanish patients with HCV infection: relationship between HCV genotype 1b, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 1997;27(6):959-965.
79. Pozzato G, Moretti M, Croce LS, et al. Interferon therapy in chronic hepatitis C virus: evidence of different outcome with respect to different viral strains. *J Med Virol*. 1995;45(4):445-450.
80. Zein NN, Poterucha JJ, Gross JB, Jr., et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma in patients infected with hepatitis C genotype 1b. *Am J Gastroenterol*. 1996;91(12):2560-2562.

81. Chevaliez S. Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(2):116-121.
82. Park Y, Lee JH, Kim BS, Kim do Y, Han KH, Kim HS. New automated hepatitis C virus (HCV) core antigen assay as an alternative to real-time PCR for HCV RNA quantification. *J Clin Microbiol.* 2010;48(6):2253-2256.
83. Zeuzem S, Franke A et al. Phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates and their correlation to viremia, liver function tests, and histology. *Hepatology.* 1996 Nov; 24(5):1003-9.
84. Navarro Ortega D, Jiménez Mayordomo M, Martínez Aparicio MD. Métodos moleculares para la determinación del genotipo del virus de la hepatitis C. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25(Supl.3):66-71.
85. Uriz J, Briz R. Natural history of hepatitis C virus infection. *An Sist Sanit Navar.* 2004;27 Suppl 2:51-58.
86. Davis GL, Albright JE, Cook SF, Rosenberg DM. Projecting future complications of chronic hepatitis C in the United States. *Liver Transpl.* 2003;9(4):331-338.
87. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology.* 1997;112(2):463-472.
88. Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg.* 1964;1:1-85.
89. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.* 1973;60(8):646-649.
90. Albers I, Hartmann H, Bircher J, Creutzfeldt W. Superiority of the Child-Pugh classification to quantitative liver function tests for assessing prognosis of liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol.* 1989;24(3):269-276.
91. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet.* 2008;371(9615):838-851.

92. Friedman SL. Evolving challenges in hepatic fibrosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(8):425-436.
93. Desmet VJ, Roskams T. Cirrhosis reversal: a duel between dogma and myth. *J Hepatol*. 2004;40(5):860-867.
94. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, et al. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest*. 1998;102(3):538-549.
95. Murphy FR, Issa R, Zhou X, et al. Inhibition of apoptosis of activated hepatic stellate cells by tissue inhibitor of metalloproteinase-1 is mediated via effects on matrix metalloproteinase inhibition: implications for reversibility of liver fibrosis. *J Biol Chem*. 2002;277(13):11069-11076.
96. Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2012;5 Suppl 1:S26.
97. Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis*. 2001;21(3):373-384.
98. Schuppan D, Krebs A, Bauer M, Hahn EG. Hepatitis C and liver fibrosis. *Cell Death Differ*. 2003;10 Suppl 1:S59-67.
99. Poynard T, Afdhal NH. Perspectives on fibrosis progression in hepatitis C: an a la carte approach to risk factors and staging of fibrosis. *Antivir Ther*. 2010;15(3):281-291.
100. Moriya K, Fujie H, Shintani Y, et al. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med*. 1998;4(9):1065-1067.
101. Okuda M, Li K, Beard MR, et al. Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology*. 2002;122(2):366-375.

102. Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, et al. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2000;31(4):828-833.
103. Harada K, Minato H, Hiramatsu K, Nakanuma Y. Epithelioid cell granulomas in chronic hepatitis C: immunohistochemical character and histological marker of favourable response to interferon-alpha therapy. *Histopathology*. 1998;33(3):216-221.
104. Cramp ME, Carucci P, Underhill J, Naoumov NV, Williams R, Donaldson PT. Association between HLA class II genotype and spontaneous clearance of hepatitis C viraemia. *J Hepatol*. 1998;29(2):207-213.
105. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis c. *J Hepatol*. 2001;34(5):730-739.
106. Massard J, Ratziu V, Thabut D, et al. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2006;44(1 Suppl):S19-24.
107. Calvaruso V, Craxì A. 2011 European Association of the Study of the Liver hepatitis C virus clinical practice guidelines. *Liver International*. 2012;32:2-8.
108. Benvegna L, Pontisso P, Cavalletto D, Noventa F, Chemello L, Alberti A. Lack of correlation between hepatitis C virus genotypes and clinical course of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hepatology*. 1997;25(1):211-215.
109. Naoumov NV, Chokshi S, Metivier E, Maertens G, Johnson PJ, Williams R. Hepatitis C virus infection in the development of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *J Hepatol*. 1997;27(2):331-336.
110. Castera L, Hezode C, Roudot-Thoraval F, et al. Worsening of steatosis is an independent factor of fibrosis progression in untreated patients with chronic hepatitis C and paired liver biopsies. *Gut*. 2003;52(2):288-292.
111. Bochud PY, Cai T, Overbeck K, et al. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2009;51(4):655-666.

112. Probst A, Dang T, Bochud M, Egger M, Negro F, Bochud PY. Role of hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression--a systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat.* 2011;18(11):745-759.
113. Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S, et al. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way. *Gut.* 2004;53(3):406-412.
114. Forns X, Ampurdanes S, Sanchez-Tapias JM, et al. Long-term follow-up of chronic hepatitis C in patients diagnosed at a tertiary-care center. *J Hepatol.* 2001;35(2):265-271.
115. Di Martino V, Lebray P, Myers RP, et al. Progression of liver fibrosis in women infected with hepatitis C: long-term benefit of estrogen exposure. *Hepatology.* 2004;40(6):1426-1433.
116. McCullough AJ, Falck-Ytter Y. Body composition and hepatic steatosis as precursors for fibrotic liver disease. *Hepatology.* Vol 29. United states 1999:1328-1330.
117. Kral JG, Schaffner F, Pierson RN, Jr., Wang J. Body fat topography as an independent predictor of fatty liver. *Metabolism.* 1993;42(5):548-551.
118. Hu SX, Kyulo NL, Xia VW, Hillebrand DJ, Hu KQ. Factors associated with hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a retrospective study of a large cohort of U.S. patients. *J Clin Gastroenterol.* 2009;43(8):758-764.
119. Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M, et al. Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3. *Am J Pathol.* 2004;165(5):1499-1508.
120. Cua IH, Hui JM, Bandara P, et al. Insulin resistance and liver injury in hepatitis C is not associated with virus-specific changes in adipocytokines. *Hepatology.* 2007;46(1):66-73.

121. Das GC, Hollinger FB. Molecular pathways for glucose homeostasis, insulin signaling and autophagy in hepatitis C virus induced insulin resistance in a cellular model. *Virology*. 2012;434(1):5-17.
122. Wiley TE, McCarthy M, Breidi L, Layden TJ. Impact of alcohol on the histological and clinical progression of hepatitis C infection. *Hepatology*. 1998;28(3):805-809.
123. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2001;34(4 Pt 1):809-816.
124. Mathurin P, Moussalli J, Cadranel JF, et al. Slow progression rate of fibrosis in hepatitis C virus patients with persistently normal alanine transaminase activity. *Hepatology*. 1998;27(3):868-872.
125. Hezode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, et al. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;42(1):63-71.
126. Mallat A, Hezode C, Lotersztajn S. Environmental factors as disease accelerators during chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2008;48(4):657-665.
127. Fontaine H, Nalpas B, Poulet B, et al. Hepatitis activity index is a key factor in determining the natural history of chronic hepatitis C. *Hum Pathol*. 2001;32(9):904-909.
128. M. MP, M. GP. Guía clínica de punción biopsia hepática. Hospital Parc Tauli de Sabadell 2010.
129. Dible JH, McMichael J, Sherlock SPV. PATHOLOGY OF ACUTE HEPATITIS ASPIRATION BIOPSY STUDIES OF EPIDEMIC, ARSENOTHERAPY AND SERUM JAUNDICE. *The Lancet*. 1943;242(6266):402-408.
130. Sporea I, Popescu A, Sirli R. Why, who and how should perform liver biopsy in chronic liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2008;14(21):3396-3402.

131. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(10):2614-2618.
132. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology.* 2009;49(3):1017-1044.
133. Desmet VJ, Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis [Hepatology 1981;1:431-435]. *J Hepatol.* 2003;38(4):382-386.
134. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol.* 1995;22(6):696-699.
135. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology.* 1996;24(2):289-293.
136. Mehta SH, Lau B, Afdhal NH, Thomas DL. Exceeding the limits of liver histology markers. *J Hepatol.* 2009;50(1):36-41.
137. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology.* 1981;1(5):431-435.
138. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003;38(6):1449-1457.
139. 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(2):239-244.
140. Garcia-Tsao G, Boyer JL. Outpatient liver biopsy: how safe is it? *Ann Intern Med.* 1993;118(2):150-153.

141. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *J Hepatol.* 1986;2(2):165-173.
142. Jacobs WH, Goldberg SB. Statement on outpatient percutaneous liver biopsy. *Dig Dis Sci.* 1989;34(3):322-323.
143. Branera J, Puig J, Gil M, Bella R, Darnell A, Malet A. Punción biopsia hepática ambulatoria (PBHA) guiada por ultrasonografía: descripción técnica y complicaciones. *TITLEREVISTA.* 2005;47(01):32-36.
144. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology.* 1994;20 (1 Pt 1):15-20.
145. Coton T, Matton T, Pecarrere JL, Monchy D, Debonne JM. [Interobserver reproducibility of the Knodell score and the METAVIR score in chronic viral hepatitis C. Results of 60 liver biopsies]. *Gastroenterol Clin Biol.* 2001 (25): 915-916.
146. Inarairaegui M, Elizalde I, Martinez Echeverria A, Zozaya JM, Beloqui R, Martinez Penuela JM. Chronic hepatitis C virus infection. *An Sist Sanit Navar.* 2004;27 Suppl 2:69-80.
147. Ikawa H, Hayashi Y, Ninomiya T, et al. Various scoring systems evaluating histologic features of chronic hepatitis C treated with interferon. *Hum Pathol.* 2001;32(9):910-917.
148. Gamal Shiha and Khaled Zalata (2011). *Ishak versus METAVIR: Terminology CaCwLCiCHC, Liver Biopsy*, Dr Hirokazu Takahashi (Ed.), ISBN: 978-953-307-644-7, InTech, DOI: 10.5772/20110. Available from: <http://www.intechopen.com/books/liver-biopsy/ishak-versus-METAVIR-terminology-convertibility-and-correlation-with-laboratory-changes-in-chronic-h>.

149. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology*. 1994;19(6):1513-1520.
150. Bedossa P, Carrat F. Liver biopsy: the best, not the gold standard. *J Hepatol*. Vol 50. England 2009:1-3.
151. Poynard T, Morra R, Halfon P, et al. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterol*. 2007;7:40.
152. Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 1998;93(1):44-48.
153. Reedy DW, Loo AT, Levine RA. AST/ALT ratio $>$ or $=$ 1 is not diagnostic of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*. 1998;43(9):2156-2159.
154. Kaul V, Friedenberg FK, Braitman LE, et al. Development and validation of a model to diagnose cirrhosis in patients with hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(10):2623-2628.
155. Oberti F, Valsesia E, Pilette C, et al. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology*. 1997;113(5):1609-1616.
156. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002;36(4 Pt 1):986-992.
157. Bonacini M, Hadi G, Govindarajan S, Lindsay KL. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 1997;92(8):1302-1304.
158. Colli A, Fraquelli M, Andreoletti M, Marino B, Zuccoli E, Conte D. Severe liver fibrosis or cirrhosis: accuracy of US for detection--analysis of 300 cases. *Radiology*. 2003;227(1):89-94.

159. Aube C, Oberti F, Korali N, et al. Ultrasonographic diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *J Hepatol.* 1999;30(3):472-478.
160. Gaiani S, Gramantieri L, Venturoli N, et al. What is the criterion for differentiating chronic hepatitis from compensated cirrhosis? A prospective study comparing ultrasonography and percutaneous liver biopsy. *J Hepatol.* 1997;27(6):979-985.
161. Gomez de la Camara A. [All that neurologist would like to know about sensitivity, specificity and predictive values]. *Neurologia.* 2003;18 Suppl 2:11-18.
162. Burroughs AK, Cholongitas E. Non-invasive tests for liver fibrosis: encouraging or discouraging results? *J Hepatol.* Vol 46. England 2007:751-755.
163. 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(2):297-306.
164. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003;38(2):518-526.
165. Lok AS, Ghany MG, Goodman ZD, et al. Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: results of the HALT-C cohort. *Hepatology.* 2005;42(2):282-292.
166. Naveau S, Poynard T, Benattar C, Bedossa P, Chaput JC. Alpha-2-macroglobulin and hepatic fibrosis. Diagnostic interest. *Dig Dis Sci.* 1994;39(11):2426-2432.
167. Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, et al. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem.* 2004;50(8):1344-1355.
168. Imbert-Bismut F, Ratziu 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(9262):1069-1075.

169. Cales P, Oberti F, Michalak S, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology*. 2005;42(6):1373-1381.
170. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, et al. HepaScore®: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem*. 2005;51(10):1867-1873.
171. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2004;127(6):1704-1713.
172. Patel K, Gordon SC, Jacobson I, 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(6):935-942.
173. Gomez-Dominguez E, Mendoza J, Rubio S, Moreno-Montegudo JA, Garcia-Buey L, Moreno-Otero R. Transient elastography: a valid alternative to biopsy in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24(3):513-518.
174. Afdhal NH. Diagnosing fibrosis in hepatitis C: is the pendulum swinging from biopsy to blood tests? *Hepatology*. Vol 37. United States 2003:972-974.
175. Poynard T, Aubert A, Bedossa P, et al. A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. *Gastroenterology*. 1991;100(5 Pt 1):1397-1402.
176. Castera L, Denis J, Babany G, Roudot-Thoraval F. Evolving practices of non-invasive markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C in France: time for new guidelines? *J Hepatol*. Vol 46. England 2007:528-529; author reply 529-530.
177. Fontaine H, Petitprez K, Roudot-Thoraval F, Trinchet JC. Guidelines for the diagnosis of uncomplicated cirrhosis. *Gastroenterol Clin Biol*. 2007;31(5):504-509.
178. Castera L. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatol Int*. 2011;5(2):625-634.
179. Ratziu V. Serum fibrosis markers: death by validation or a leap of faith? *J Hepatol*. Vol 53. England 2010:222-224.

-
180. Poynard T. First-line assessment of patients with chronic liver disease with non-invasive techniques and without recourse to liver biopsy. *J Hepatol.* 2011;54(3):586-587.
 181. Rockey DC. Serologic markers of hepatic fibrosis. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2008;4(8):539-541.
 182. Parkes J, Guha IN, Roderick P, Rosenberg W. Performance of serum marker panels for liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2006;44(3):462-474.
 183. Halfon P, Bacq Y, De Muret A, et al. Comparison of test performance profile for blood tests of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2007;46(3):395-402.
 184. Leroy V, Hilleret MN, Sturm N, et al. Prospective comparison of six non-invasive scores for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2007;46(5):775-782.
 185. Leroy V, Halfon P, Bacq Y, et al. Diagnostic accuracy, reproducibility and robustness of fibrosis blood tests in chronic hepatitis C: a meta-analysis with individual data. *Clin Biochem.* 2008;41(16-17):1368-1376.
 186. Cales P, de Ledinghen V, Halfon P, et al. Evaluating the accuracy and increasing the reliable diagnosis rate of blood tests for liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Liver Int.* 2008;28(10):1352-1362.
 187. Degos F, Perez P, Roche B, 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):1013-1021.
 188. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis. Liver biopsy is not always necessary. *Prescrire Int.* 2010;19(105):38-42.
 189. Ngo Y, Munteanu M, Messous D, et al. A prospective analysis of the prognostic value of biomarkers (FibroTest) in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem.* 2006;52(10):1887-1896.

190. Becker L, Salameh W, Sferruzza A, et al. Validation of HepaScore®, compared with simple indices of fibrosis, in patients with chronic hepatitis C virus infection in United States. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7(6):696-701.
191. Bourliere M, Penaranda G, Ouzan D, et al. Optimized stepwise combination algorithms of non-invasive liver fibrosis scores including HepaScore® in hepatitis C virus patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(4):458-467.
192. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology*. 2007;46(1):32-36.
193. Cross TJ, Rizzi P, Berry PA, Bruce M, Portmann B, Harrison PM. King's Score: an accurate marker of cirrhosis in chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009;21(7):730-738.
194. Sebastiani G, Vario A, Guido M, et al. Stepwise combination algorithms of non-invasive markers to diagnose significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2006;44(4):686-693.
195. Thabut D, Simon M, Myers RP, et al. Noninvasive prediction of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. Vol 37. United States 2003:1220-1221; author reply 1221.
196. Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review. *Hepatology*. 2007;46(3):912-921.
197. Obrador BD, Prades MG, Gomez MV, et al. A predictive index for the diagnosis of cirrhosis in hepatitis C based on clinical, laboratory, and ultrasound findings. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006;18(1):57-62.
198. Bejarano G, Vergara M, Dalmau B, et al. Prospective evaluation of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C infection using the Sabadell NIHCED (Non-Invasive Hepatitis-C-Related Cirrhosis Early Detection) index. *Rev Esp Enferm Dig*. 2009;101(5):325-335.

199. Sebastiani G, Halfon P, Castera L, et al. Comparison of three algorithms of non-invasive markers of fibrosis in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35(1):92-104.
200. Bourliere M, Penaranda G, Renou C, et al. Validation and comparison of indexes for fibrosis and cirrhosis prediction in chronic hepatitis C patients: proposal for a pragmatic approach classification without liver biopsies. *J Viral Hepat.* 2006;13(10):659-670.
201. Boursier J, Vergniol J, Sawadogo A, et al. The combination of a blood test and Fibroscan improves the non-invasive diagnosis of liver fibrosis. *Liver Int.* 2009;29(10):1507-1515.
202. Sebastiani G, Halfon P, Castera L, et al. SAFE biopsy: a validated method for large-scale staging of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2009;49(6):1821-1827.
203. Sebastiani G. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver diseases: implementation in clinical practice and decisional algorithms. *World J Gastroenterol.* 2009;15(18):2190-2203.
204. Castera L, Vergniol J, Foucher J, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2005;128(2):343-350.
205. Castera L, Sebastiani G, Le Bail B, de Ledinghen V, Couzigou P, Alberti A. Prospective comparison of two algorithms combining non-invasive methods for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2010;52(2):191-198.
206. Boursier J, de Ledinghen V, Zarski JP, et al. A new combination of blood test and fibroscan for accurate non-invasive diagnosis of liver fibrosis stages in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(7):1255-1263.
207. Non invasive methods for the evaluation of hepatic fibrosis/cirrhosis: an update. 2008. <http://www.has-sante.fr/portail/>

208. Bota S, Sirli R, Sporea I, et al. A new scoring system for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepat Mon.* 2011;11(7):548-555.
209. Crisan D, Radu C, Lupsor M, Sparchez Z, Grigorescu MD, Grigorescu M. Two or more synchronous combination of noninvasive tests to increase accuracy of liver fibrosis assesment in chronic hepatitis C; results from a cohort of 446 patients. *Hepat Mon.* 2012;12(3):177-184.
210. Poynard T, Munteanu M, Ngo Y, et al. ActiTest accuracy for the assessment of histological activity grades in patients with chronic hepatitis C, an overview using Obuchowski measure. *Gastroenterol Clin Biol.* 2010;34(6-7):388-396.
211. Hatta T, Fujinaga Y, Kadoya M, et al. Accurate and simple method for quantification of hepatic fat content using magnetic resonance imaging: a prospective study in biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol.* 2010;45(12):1263-1271.
212. Poynard T, Ratziu V, Naveau S, et al. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comp Hepatol.* 2005;4:10.
213. Standish RA, Cholongitas E, Dhillon A, Burroughs AK, Dhillon AP. An appraisal of the histopathological assesment of liver fibrosis. *Gut.* 2006;55(4):569-578.
214. Poynard T, Halfon P, Castera L, et al. Standarddization of ROC curve areas for diagnostic evaluation of liver fibrosis markers based on prevalences of fibrosis stages. *Clin Chem.* 2007;53(9):1615-1622.
215. Obuchowski NA. An ROC-type measure of diagnostic accuracy when the gold standardd is continuous-scale. *Stat Med.* 2006;25(3):481-493.
216. Lackner C, Struber G, Liegl B, et al. Comparison and validation of simple noninvasive tests for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2005;41(6):1376-1382.
217. Sebastiani G, Castera L, Halfon P, et al. The impact of liver disease aetiology and the stages of hepatic fibrosis on the performance of non-invasive fibrosis

- biomarkers: an international study of 2411 cases. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(10):1202-1216.
218. Boursier J, Bertrais S, Oberti F, et al. Comparison of accuracy of fibrosis degree classifications by liver biopsy and non-invasive tests in chronic hepatitis C. *BMC Gastroenterol.* 2011;11:132.
219. Usluer G, Erben N, Aykin N, et al. Comparison of non-invasive fibrosis markers and classical liver biopsy in chronic hepatitis C. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31(8):1873-1878.
220. Ahmad W, Ijaz B, Javed FT, et al. A comparison of four fibrosis indexes in chronic HCV: development of new fibrosis-cirrhosis index (FCI). *BMC Gastroenterol.* 2011;11:44.
221. Fabris C, Smirne C, Toniutto P, et al. Usefulness of six non-proprietary indirect markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(2):253-259.
222. Stauber RE, Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2007;13(32):4287-4294.
223. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 2009;49(4):1335-1374.
224. Berzigotti A, Abraldes JG, Tandon P, et al. Ultrasonographic evaluation of liver surface and transient elastography in clinically doubtful cirrhosis. *J Hepatol.* 2010;52(6):846-853.
225. 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.
226. Lupsor M, Badea R, Stefanescu H, et al. Performance of a new elastographic method (ARFI technology) compared to unidimensional transient elastography in

- the noninvasive assessment of chronic hepatitis C. Preliminary results. *J Gastrointest Liver Dis.* 2009;18(3):303-310.
227. Huwart L, Sempoux C, Vicaut E, et al. Magnetic resonance elastography for the noninvasive staging of liver fibrosis. *Gastroenterology.* 2008;135(1):32-40.
228. Romero-Gomez M, Gomez-Gonzalez E, Madrazo A, et al. Optical analysis of computed tomography images of the liver predicts fibrosis stage and distribution in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2008;47(3):810-816.
229. Huwart L, Sempoux C, Salameh N, et al. Liver fibrosis: noninvasive assessment with MR elastography versus aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index. *Radiology.* 2007;245(2):458-466.
230. Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, et al. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007;5(10):1207-1213.e1202.
231. Friedrich-Rust M, Ong MF, Herrmann E, et al. Real-time elastography for noninvasive assessment of liver fibrosis in chronic viral hepatitis. *AJR Am J Roentgenol.* 2007;188(3):758-764.
232. Lewin M, Poujol-Robert A, Boelle PY, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2007;46(3):658-665.
233. Sacerdoti D, Merkel C, Bolognesi M, Amodio P, Angeli P, Gatta A. Hepatic arterial resistance in cirrhosis with and without portal vein thrombosis: relationships with portal hemodynamics. *Gastroenterology.* 1995;108(4):1152-1158.
234. Ohnishi K, Saito M, Nakayama T, et al. Portal venous hemodynamics in chronic liver disease: effects of posture change and exercise. *Radiology.* 1985;155(3):757-761.
235. Denys A, Menu Y. Portal and splanchnic blood flow measurements in vivo: US Doppler or MR angiography? *J Hepatol.* Vol 26. Denmark1997:437-438.

236. Zoli M, Cordiani MR, Marchesini G, Abbati S, Bianchi G, Pisi E. Ultrasonographic follow-up of liver cirrhosis. *J Clin Ultrasound*. 1990;18(2):91-96.
237. Giorgio A, Amoroso P, Lettieri G, et al. Cirrhosis: value of caudate to right lobe ratio in diagnosis with US. *Radiology*. 1986;161(2):443-445.
238. Goyal AK, Pokharna DS, Sharma SK. Ultrasonic diagnosis of cirrhosis: reference to quantitative measurements of hepatic dimensions. *Gastrointest Radiol*. 1990;15(1):32-34.
239. Needleman L, Kurtz AB, Rifkin MD, Cooper HS, Pasto ME, Goldberg BB. Sonography of diffuse benign liver disease: accuracy of pattern recognition and grading. *AJR Am J Roentgenol*. 1986;146(5):1011-1015.
240. Di Lelio A, Cestari C, Lomazzi A, Beretta L. Cirrhosis: diagnosis with sonographic study of the liver surface. *Radiology*. 1989;172(2):389-392.
241. Simonovsky V. The diagnosis of cirrhosis by high resolution ultrasound of the liver surface. *Br J Radiol*. 1999;72(853):29-34.
242. Cottone M, D'Amico G, Maringhini A, et al. Predictive value of ultrasonography in the screening of non-ascitic cirrhotic patients with large varices. *J Ultrasound Med*. 1986;5(4):189-192.
243. Zoli M, Iervese T, Merkel C, et al. Prognostic significance of portal hemodynamics in patients with compensated cirrhosis. *J Hepatol*. 1993;17(1):56-61.
244. Moriyasu F, Nishida O, Ban N, et al. "Congestion index" of the portal vein. *AJR Am J Roentgenol*. 1986;146(4):735-739.
245. van Leeuwen MS. Doppler ultrasound in the evaluation of portal hypertension. *Clin Diagn Ultrasound*. 1990;26:53-76.
246. Iwao T, Toyonaga A, Oho K, et al. Value of Doppler ultrasound parameters of portal vein and hepatic artery in the diagnosis of cirrhosis and portal hypertension. *Am J Gastroenterol*. 1997;92(6):1012-1017.

247. Bolognesi M, Sacerdoti D, Merkel C, Bombonato G, Gatta A. Noninvasive grading of the severity of portal hypertension in cirrhotic patients by echo-color-Doppler. *Ultrasound Med Biol*. 2001;27(7):901-907.
248. Berzigotti A, Casadei A, Magalotti D, et al. Renovascular impedance correlates with portal pressure in patients with liver cirrhosis. *Radiology*. 2006;240(2):581-586.
249. Taourel P, Blanc P, Dauzat M, et al. Doppler study of mesenteric, hepatic, and portal circulation in alcoholic cirrhosis: relationship between quantitative Doppler measurements and the severity of portal hypertension and hepatic failure. *Hepatology*. 1998;28(4):932-936.
250. Materne R, Van Beers BE, Smith AM, et al. Non-invasive quantification of liver perfusion with dynamic computed tomography and a dual-input one-compartmental model. *Clin Sci (Lond)*. 2000;99(6):517-525.
251. Materne R, Annet L, Dechambre S, et al. Dynamic computed tomography with low- and high-molecular-mass contrast agents to assess microvascular permeability modifications in a model of liver fibrosis. *Clin Sci (Lond)*. 2002;103(2):213-216.
252. Varenika V, Fu Y, Maher JJ, et al. Hepatic fibrosis: evaluation with semiquantitative contrast-enhanced CT. *Radiology*. 2013;266(1):151-158
253. Van Beers BE, Leconte I, Materne R, Smith AM, Jamart J, Horsmans Y. Hepatic perfusion parameters in chronic liver disease: dynamic CT measurements correlated with disease severity. *AJR Am J Roentgenol*. 2001;176(3):667-673.
254. Manduca A, Oliphant TE, Dresner MA, et al. Magnetic resonance elastography: non-invasive mapping of tissue elasticity. *Med Image Anal*. 2001;5(4):237-254.
255. Van Beers BE, Materne R, Annet L, et al. Capillarization of the sinusoids in liver fibrosis: noninvasive assessment with contrast-enhanced MRI in the rabbit. *Magn Reson Med*. 2003;49(4):692-699.

256. D'Onofrio M, Crosara S, De Robertis R, et al. Acoustic radiation force impulse of the liver. *World J Gastroenterol*. 2013;19(30):4841-4849.
257. Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, et al. Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography. *Radiology*. 2009;252(2):595-604.
258. Boursier J, Zarski JP, de Ledinghen V, et al. Determination of reliability criteria for liver stiffness evaluation by transient elastography. *Hepatology*. 2013;57(3):1182-1191.
259. Ferraioli G, Tinelli C, Dal Bello B, Zicchetti M, Filice G, Filice C. Accuracy of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C: a pilot study. *Hepatology*. 2012;56(6):2125-2133.
260. Fierbinteanu-Braticevici C, Andronescu D, Usvat R, Cretoiu D, Baicus C, Marinoschi G. Acoustic radiation force imaging sonoelastography for noninvasive staging of liver fibrosis. *World J Gastroenterol*. 2009;15(44):5525-5532.
261. Boursier J, Isselin G, Fouchard-Hubert I, et al. Acoustic radiation force impulse: a new ultrasonographic technology for the widespread noninvasive diagnosis of liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010;22(9):1074-1084.
262. Takahashi H, Ono N, Eguchi Y, et al. Evaluation of acoustic radiation force impulse elastography for fibrosis staging of chronic liver disease: a pilot study. *Liver Int*. 2010;30(4):538-545.
263. Rizzo L, Calvaruso V, Cacopardo B, et al. Comparison of transient elastography and acoustic radiation force impulse for non-invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(12):2112-2120.
264. Rifai K, Cornberg J, Mederacke I, et al. Clinical feasibility of liver elastography by acoustic radiation force impulse imaging (ARFI). *Dig Liver Dis*. 2011;43(6):491-497.

265. Castera L. [Use of elastometry (FibroScan) for the non-invasive staging of liver fibrosis. *Gastroenterol Clin Biol*. 2007;31(5):524-530; quiz 500, 531-522.
266. Roulot D, Czernichow S, Le Clesiau H, Costes JL, Vergnaud AC, Beaugrand M. Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *J Hepatol*. 2008;48(4):606-613.
267. 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):650-659.
268. Talwalkar JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ, West CP, Montori VM. Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5(10):1214-1220.
269. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008;134(4):960-974.
270. Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut*. 2006;55(3):403-408.
271. Sporea I, Sirli R, Deleanu A, et al. Comparison of the liver stiffness measurement by transient elastography with the liver biopsy. *World J Gastroenterol*. 2008;14(42):6513-6517.
272. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, et al. Comparison of liver biopsy and transient elastography based on clinical relevance. *Can J Gastroenterol*. 2008;22(9):753-757.
273. Marcellin P, Ziol M, Bedossa P, et al. Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement in patients with chronic hepatitis B. *Liver Int*. 2009;29(2):242-247.

-
274. Oliveri F, Coco B, Ciccorossi P, et al. Liver stiffness in the hepatitis B virus carrier: a non-invasive marker of liver disease influenced by the pattern of transaminases. *World J Gastroenterol.* 2008;14(40):6154-6162.
275. Chan HL, Wong GL, Choi PC, et al. Alanine aminotransferase-based algorithms of liver stiffness measurement by transient elastography (Fibroscan) for liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 2009;16(1):36-44.
276. Kim do Y, Kim SU, Ahn SH, et al. Usefulness of FibroScan for detection of early compensated liver cirrhosis in chronic hepatitis B. *Dig Dis Sci.* 2009;54(8):1758-1763.
277. Coco B, Oliveri F, Maina AM, et al. Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. *J Viral Hepat.* 2007;14(5):360-369.
278. Myers RP, Pomier-Layrargues G, Kirsch R, et al. Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients. *Hepatology.* 2012;55(1):199-208.
279. Arena U, Vizzutti F, Corti G, et al. Acute viral hepatitis increases liver stiffness values measured by transient elastography. *Hepatology.* 2008;47(2):380-384.
280. Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, Haussinger D. Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology.* 2008;47(2):592-595.
281. Millonig G, Friedrich S, Adolf S, et al. Liver stiffness is directly influenced by central venous pressure. *J Hepatol.* 2010;52(2):206-210.
282. Lebray P, Varnous S, Charlotte F, Varaut A, Poynard T, Ratzu V. Liver stiffness is an unreliable marker of liver fibrosis in patients with cardiac insufficiency. *Hepatology.* 2008;48(6):2089.

283. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, et al. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut*. 2007;56(7):968-973.
284. Boursier J, Konate A, Guilluy M, et al. Learning curve and interobserver reproducibility evaluation of liver stiffness measurement by transient elastography. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20(7):693-701.
309. Shaheen AA, Wan AF, Myers RP. FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(11):2589-2600.
286. Ziol M, Marcellin P, Douvin C, Ledinghen Vd, Poupon R, Beaugrand M. Abstracts 214:LIVER STIFFNESS CUT-OFF VALUES IN HCV PATIENTS: VALIDATION AND COMPARISON IN AN INDEPENDENT POPULATION. *Hepatology*. 2006;44(S1):188A-286A.
287. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;41(1):48-54.
288. Carrion JA, Navasa M, Buti M, et al. [Hepatic elastography. Position paper of the Catalan Society of Gastroenterology]. *Gastroenterol Hepatol*. 2011;34(7):504-510.
289. Poynard T, Ingiliz P, Elkrief L, et al. Concordance in a world without a gold standard: a new non-invasive methodology for improving accuracy of fibrosis markers. *PLoS One*. 2008;3(12):e3857.
290. Sirli R, Sporea I, Bota S, Popescu A, Cornianu M. A comparative study of non-invasive methods for fibrosis assessment in chronic HCV infection. *Hepat Mon*. 2010;10(2):88-94.
291. Poynard T, de Ledinghen V, Zarski JP, et al. Relative performances of FibroTest, Fibroscan, and biopsy for the assessment of the stage of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a step toward the truth in the absence of a gold standard. *J Hepatol*. 2012;56(3):541-548.

292. Carlson JJ, Kowdley KV, Sullivan SD, Ramsey SD, Veenstra DL. An evaluation of the potential cost-effectiveness of non-invasive testing strategies in the diagnosis of significant liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24(5):786-791.
293. Wong JB, Bennett WG, Koff RS, Pauker SG. Pretreatment evaluation of chronic hepatitis C: risks, benefits, and costs. *Jama*. 1998;280(24):2088-2093.
294. (CEDIT) CdEedDdIT. Quantification of hepatic fibrosis by transient elastography (Fibroscan (R)) - preliminary report [summary]. Ref. 04.10/AV1/04. 2004. Accessed October 5, 2006.
295. Martinez SM, Fernandez-Varo G, Gonzalez P, et al. Assessment of liver fibrosis before and after antiviral therapy by different serum marker panels in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33(1):138-148.
296. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Myers RP, Albrecht J. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized trial of peginterferon alfa-2b and ribavirin. *Hepatology*. 2003;38(2):481-492.
297. Poynard T, Zoulim F, Ratziu V, et al. Longitudinal assessment of histology surrogate markers (FibroTest-ActiTest) during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B infection. *Am J Gastroenterol*. 2005;100(9):1970-1980.
298. d'Aronde C, Munteanu M, Moussalli J, et al. A prospective assessment of an 'a la carte' regimen of PEG-interferon alpha2b and ribavirin combination in patients with chronic hepatitis C using biochemical markers. *J Viral Hepat*. 2006;13(3):182-189.
299. Taniguchi H, Iwasaki Y, Fujiwara A, et al. Long-term monitoring of platelet count, as a non-invasive marker of hepatic fibrosis progression and/or regression in patients with chronic hepatitis C after interferon therapy. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21(1 Pt 2):281-287.
300. Halfon P, Carrat F, Bedossa P, et al. Effect of antiviral treatment on serum markers of liver fibrosis in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients: the Fibrovic 2 Study - ANRS HC02. *Antivir Ther*. 2009;14(2):211-219.

301. Fontana RJ, Bonkovsky HL, Naishadham D, et al. Serum fibrosis marker levels decrease after successful antiviral treatment in chronic hepatitis C patients with advanced fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7(2):219-226.
302. Ogawa E, Furusyo N, Toyoda K, Takeoka H, Maeda S, Hayashi J. The longitudinal quantitative assessment by transient elastography of chronic hepatitis C patients treated with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin. *Antiviral Res*. 2009;83(2):127-134.
303. Vergniol J, Foucher J, Castera L, et al. Changes of non-invasive markers and FibroScan values during HCV treatment. *J Viral Hepat*. 2009;16(2):132-140.
304. Vergniol J, Foucher J, Terrebonne E, et al. Noninvasive tests for fibrosis and liver stiffness predict 5-year outcomes of patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2011;140(7):1970-1979, 1979.e1971-1973.
305. Poynard T, Ngo Y, Perazzo H, et al. Prognostic value of liver fibrosis biomarkers: a meta-analysis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2011;7(7):445-454.
306. Moreno M, Pérez-Álvarez R, Rodrigo L, Pérez-López R, González M. Evolución a largo plazo de la lesión hepática en pacientes con hepatitis crónica C y respuesta sostenida al tratamiento antiviral. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2005;97(12):860-869.
307. Poynard T, Moussalli J, Munteanu M, et al. Slow regression of liver fibrosis presumed by repeated biomarkers after virological cure in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2013;59(4):675-683.
308. Kazemi F, Kettaneh A, N'Kontchou G, et al. Liver stiffness measurement selects patients with cirrhosis at risk of bearing large oesophageal varices. *J Hepatol*. 2006;45(2):230-235.
309. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, et al. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. *Hepatology*. 2009;49(6):1954-1961.

310. Sebastiani G, Tempesta D, Fattovich G, et al. Prediction of oesophageal varices in hepatic cirrhosis by simple serum non-invasive markers: Results of a multicenter, large-scale study. *J Hepatol.* 2010;53(4):630-638.
311. Tsochatzis EA, Germani G, Dhillon AP, Burroughs AK. Noninvasive assessment of liver fibrosis: the clinical context and question are important. *Hepatology.* 2011;54(6):2276.
312. Tsochatzis EA, Germani G, Hall A, Anousou PM, Dhillon AP, Burroughs AK. Noninvasive assessment of liver fibrosis: the need for better validation. *Hepatology.* 2011;53(5):1781-1782; author reply 1782-1783.
313. Poynard T, Ratziu V, Benmanov Y, Di Martino V, Bedossa P, Opolon P. Fibrosis in patients with chronic hepatitis C: detection and significance. *Semin Liver Dis.* 2000;20(1):47-55.
314. Deuffic S, Buffat L, Poynard T, Valleron AJ. Modeling the hepatitis C virus epidemic in France. *Hepatology.* 1999;29(5):1596-1601.
315. Guechot 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(4):558-563.
316. McHutchison JG, Blatt LM, de Medina M, et al. Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. Consensus Interferon Study Group. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000;15(8):945-951.
317. Kojima H, Hongo Y, Harada H, et al. Long-term histological prognosis and serum fibrosis markers in chronic hepatitis C patients treated with interferon. *J Gastroenterol Hepatol.* 2001;16(9):1015-1021.
318. Leroy V, De Traversay C, Barnoud R, et al. Changes in histological lesions and serum fibrogenesis markers in chronic hepatitis C patients non-responders to interferon alpha. *J Hepatol.* 2001;35(1):120-126.

319. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratzu V, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by hepatitis C virus: longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepat.* 2002;9(2):128-133.
320. Anastasiou J, Alisa A, Virtue S, Portmann B, Murray-Lyon I, Williams R. Noninvasive markers of fibrosis and inflammation in clinical practice: prospective comparison with liver biopsy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010;22(4):474-480.
321. Fontana RJ, Dienstag JL, Bonkovsky HL, et al. Serum fibrosis markers are associated with liver disease progression in non-responder patients with chronic hepatitis C. *Gut.* 2010;59(10):1401-1409.
322. Valva P, Casciato P, Diaz Carrasco JM, et al. The role of serum biomarkers in predicting fibrosis progression in pediatric and adult hepatitis C virus chronic infection. *PLoS One.* 2011;6(8):e23218.
323. Crisan D, Radu C, Grigorescu MD, Lupsor M, Feier D, Grigorescu M. Prospective non-invasive follow-up of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2012;21(4):375-382.
324. Vergniol J, Boursier J, Coutzac C, et al. Evolution of non-invasive tests of liver fibrosis is associated with prognosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2014.
325. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology.* 2015; 63:199-236.
326. Documento del II Consenso español sobre tratamiento de la hepatitis C. Versión final del documento 12 de Abril del 2015. www.aeeh.es.
327. Documento de consenso del Grupo Español para el estudio de la Hepatitis (GEHEP) sobre el tratamiento de la Hepatitis C, con última actualización el 11/6/2015. (<http://www.seimc.org/contenidos/gruposdeestudio/gehep/dcientificos/documentos/gehep-dc-2014-TratamientodelaHepatitisC.pdf>)

328. Poynard T, McHutchison J, Davis GL, et al. Impact of interferon alfa-2b and ribavirin on progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2000;32(5):1131-1137.
329. Poynard T, McHutchison J, Manns M, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002;122(5):1303-1313.
330. Everson GT, Shiffman M, Sterling RK, et al. Abstracts 1020 to 1278 Hepatic function improves after sustained advanced fibrosis and cirrhosis: results of the lead-in phase of the HALTC-C Trial. *Hepatology*. 2005;42(S1):598A-702A 697A.
331. Bruno S, Stroffolini T, Bollani S, et al. Long-term outcome of patients with HCV-related, Child's class a cirrhosis treated with Interferon-Alpha (IFN): the impact of sustained virologic response (SVR) on hepatocellular carcinoma (HCC) occurrence and mortality. *Hepatology*. 2005;42(S1):196A-298A 229A-230A.
332. Manns MP, Foster GR. The way forward in HCV treatment--finding the right path. *Nat Rev Drug Discov*. 2007 Dec;6(12):991-1000.
333. McHutchison JG, Everson GT, Gordon SC, et al. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2009;360(18):1827-1838.
334. Kwo PY, Lawitz EJ, McCone J, et al. Efficacy of boceprevir, an NS3 protease inhibitor, in combination with peginterferon alfa-2b and ribavirin in treatment-naive patients with genotype 1 hepatitis C infection (SPRINT-1): an open-label, randomised, multicentre phase 2 trial. *Lancet*. 2010;376(9742):705-716.
335. Calland N, Dubuisson J, Rouille Y, Seron K. Hepatitis C virus and natural compounds: a new antiviral approach? *Viruses*. 2012;4(10):2197-2217.
336. Flisiak R, Pawlotsky JM, Crabbé R, et al. 4 Once daily alisporivir (DEB025) plus pegifnalfa 2A/Ribavirin results in superior sustained virologic response (SVR24) in chronic hepatitis C genotyp 1 treatment naïve patients. *Journal of Hepatology*.54:S2.

337. F Gane EJ, Stedman CA, Hyland RH, et al. Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C. *N Engl J Med*. 2013;368(1):34-44.
338. Tanwar S, Trembling PM, Dusheiko GM. TMC435 for the treatment of chronic hepatitis C. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012;21(8):1193-1209.
339. Moreno C, Berg T, Tanwandee T, et al. Antiviral activity of TMC435 monotherapy in patients infected with HCV genotypes 2-6: TMC435-C202, a phase IIa, open-label study. *J Hepatol*. 2012;56(6):1247-1253.
340. Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med*. 2014 Jan 16; 370(3):211-21.
341. Nakamoto S, Kanda T, Wu S, Shirasawa H, Yokosuka O. Hepatitis C virus NS5A inhibitors and drug resistance mutations. *World J Gastroenterol WJG*. 2014;20(11):2902-12.
342. Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, Chojkier M et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2014 May 15;370(20):1889-98.
343. Ferenci P, Bernstein D, Lalezari J, et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with or without ribavirin for HCV. *N Engl J Med*. 2014 May 22;370(21):1983-92.
344. Soresi M, Giannitrapani L, Cervello M, Licata A, Montalto G. Non invasive tools for the diagnosis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2014 Dec 28; 20(48):18131-50.
345. Usta J, Wehbeh A, Rida K, El-Rifai O, Estiphan TA, Majarian T, Barada K. Phenotype-genotype correlation in Wilson disease in a large Lebanese family: association of c.2299insC with hepatic and of p. Ala1003Thr with neurologic phenotype. *PLoS One*. 2014 Nov 12; 9(11):e109727.

346. Hshiao MH, Chen PC, Jao JC, Huang YH, Lee CC, Chao SY, Lin LW, Chen TB. Quantifying liver cirrhosis by extracting significant features from MRI T2 image. *ScientificWorldJournal*. 2012; 2012:343847.
347. Pesce A, Scilletta R, Branca A, Nigro L, Montineri A, Larocca L, Fatuzzo F, Castaing M, Puleo S. Does transient elastography (FibroScan®) have a role in decision making in hepatocellular carcinoma? *HPB (Oxford)*. 2012 Jun; 14(6):403-8.
348. Chou R, Cottrell EB, Wasson N, Rahman B, Guise JM. Screening for Hepatitis C Virus Infection in Adults. *Comparative Effectiveness Reviews*, No. 69. Report No.: 12 (13)-EHC090-EF. Rockville (MD), Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2012 Nov. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0051701/>)
349. Saito M, Yano Y et al. Serum NX-DCP as a New Noninvasive Model to Predict Significant Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis C. *Hepat Mon*. 2015 February; 15(2) :e22978
350. Ozel BD, Poyrazoğlu OK, Karaman A et al. The PAPAS index: a novel index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2015 Aug;27(8):895-900.
351. Ydreborg M, Lisovskaja V, Lagging M et al A novel fibrosis index comprising a non-cholesterol sterol accurately predicts HCV-related liver cirrhosis. *PLoS One*. 2014 Apr 3;9(4):e93601.
352. Shehab H, Elattar I, Elbaz T. CUFA algorithm: assessment of liver fibrosis using routine laboratory data. *J Viral Hepat*. 2014 Dec;21(12):956-64.
353. Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSAs Recommendations for Testing, Managing, and Treating Adults Infected with Hepatitis C Virus, 2015.
354. EASL recommendations on treatment of hepatitis C, 2014.
355. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C, 2015.

356. Boursier J, de Ledinghen V, Zarski JP et al. Comparison of eight diagnostic algorithms for liver fibrosis in hepatitis C: new algorithms are more precise and entirely noninvasive. *Hepatology*. 2012 Jan;55(1):58-67.
357. Datz C., Cramp M et al. The natural course of hepatitis C virus infection 18 years after an epidemic outbreak of non-A, non-B hepatitis in a plasmapheresis centre. *Gut* 1999; 44: 563-567.
358. Westbrook RH, Dusheiko G. , 2014, Natural history of hepatitis C. *J. Hepatol* 2014; 61:S58-S68.
359. Wali M, Harrisn R.F, Gow P.J., Mutimerl D. M. Advancing donor liver age and rapid fibrosis progression following transplantation for hepatitis C. *Gut* 2002;51:248-252.
360. Berenguer M, Prieto M, San Juan F, Rayón JM. Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients. *Hepatology*. 2002 Jul;36(1):202-10.
361. Vergara M, Gil M, Dalmau B et al. Natural history of hepatocellular carcinoma in a cohort of patients from a county hospital. *Rev Esp Enferm Dig*. 2008 Nov;100(11):682-7.
362. Moreno C, Berg T, Tanwandee T, et al. Antiviral activity of TMC435 monotherapy in patients infected with HCV genotypes 2-6: TMC435-C202, a phase IIa, open-label study. *J Hepatol*. 2012;56(6):1247-1253.
363. Berenguer M, Prieto M, San Juan F, Rayón JM. Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients. *Hepatology*. 2002 Jul;36(1):202-10.
364. Boursier J, Brochard C, Bertrais S et al. Combination of blood tests for significant fibrosis and cirrhosis improves the assessment of liver-prognosis in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014 Jul;40(2):178-88.

-
365. Poynard T. et al. Slow regression of liver fibrosis presumed by repeated biomarkers after virological cure in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2013 Oct;59(4):675-83.
366. Shiffman ML, Sterling RK, Contos M et al. Long term changes in liver histology following treatment of chronic hepatitis C virus. *Ann Hepatol.* 2014 Jul-Aug;13(4):340-9.
367. Mohan P, Barton BA, Narkewicz MR et al. Evaluating progression of liver disease from repeat liver biopsies in children with chronic hepatitis C: a retrospective study. *Hepatology.* 2013 Nov;58(5):1580-6.
368. Castera L, Bedossa P. How to assess liver fibrosis in chronic hepatitis C: serum markers or transient elastography vs. liver biopsy? *Liver Int* 2011; 31 (Suppl 1):13–17.
369. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ido G, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). Lancet* 1998; 352:1426–1432.
370. Rockey DC, Bissell DM. Noninvasive measures of liver fibrosis. *Hepatology* 43 (2 Suppl 1):S113-S120, 2006.
371. Hubscher SG. Histological grading and staging in chronic hepatitis: clinical applications and problems. *J.Hepatol.* 29 (6):1015-1022, 1998.
372. Sebastiani G. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver diseases: implementation in clinical practice and decisional algorithms. *World J Gastroenterol.* 2009;15(18):2190-2203.
373. Bota S, Sirli R, Sporea I, et al. A new scoring system for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepat Mon.* 2011;11(7):548-555.

374. Boursier J, de Ledinghen V, Zarski JP, et al. Comparison of eight diagnostic algorithms for liver fibrosis in hepatitis C: new algorithms are more precise and entirely noninvasive. *Hepatology*. 2012;55(1):58-67.
375. Martinez SM; Fourcher J, Combis JM et al. Longitudinal liver stiffness assessment in patients with chronic hepatitis C undergoing antiviral therapy. *PLoS One* 2012; 7:e47715
376. Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol*. 2004;40(6):993-999.
377. McHutchison JG, Manns M, Patel K, et al. Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype-1-infected patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002;123(4):1061-1069.
378. Poynard T, McHutchison J, Davis GL, et al. Impact of interferon alfa-2b and ribavirin on progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2000;32(5):1131-1137.
379. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis *Journal of Hepatology* 2015; 63: 237-264.

IX. ANEXOS

ANEXO I: ÍNDICES DE FIBROSIS- PARC TAULI

ÍNDICES DE FIBROSIS- PARC TAULI

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
2													
3	Edad		33	años									
4	ALT		91										
5	AST		52			Forns			4,14	< 4,2	F0/1	> 6,9	F3/4
6	GGT		66										
7	Colesterol		160			HALT-C			0,12	% de	CIRROSIS		
8	Plaquetas		216	10 [^] 9/L									
9	Protrombina		1			APRI			0,63				
10	INR												
11	AST/ALT		0,57	Calculo intermedio		NIHCED			0	≥ 22	CIRROSIS		
12	Caudado		0	si=1, no=0						> 6	FIBROSIS SIGNIFICATIVA		
13	Atrofia		0	si=1, no=0									
14	Espleno > 13cm		0	si=1, no=0									
15													
16													
17	APRI:					FIBROSIS SIGNIFICATIVA: Ausencia, APRI ≤ 0.5, Presencia, APRI ≥ 1.50							
18						CIRROSIS: Ausencia, APRI ≤ 1.0, Presencia, APRI > 2.00							

ANEXO II: ÍNDICES PREDICTIVOS DE FIBROSIS HEPÁTICA.

INDICES PREDICTIVOS DE FIBROSIS HEPÁTICA. PUNTOS DE CORTE USADOS

- Índice de Forns

- Ausencia de fibrosis o fibrosis leve → Forns < 4.2
- Fibrosis significativa o cirrosis hepática → Forns > 6.9

- APRI

- Ausencia de fibrosis significativa → APRI ≤ 0.5
- Fibrosis significativa → APRI ≥ 1.5

- Ausencia de cirrosis → APRI ≤ 1.0
- Presencia de cirrosis → APRI > 2.0

- Sabadell's NIHCED

- Ausencia de fibrosis significativa → NIHCED ≤ 6
- Fibrosis significativa → NIHCED >6-21
- Presencia de cirrosis → NIHCED ≥ 22

**ANEXO III: COMPARACIÓN ENTRE SABADELL'S NIHCED Y EL
FIBROSCAN®**

COMPARACIÓN ENTRE SABADELL'S NIHCED Y EL FIBROSCAN®

Índice no invasivos	Parámetros evaluados	Fórmula aplicada	Cut-offs	Estadísticos				
					S	E	AUC	Accuracy
Fibroscan®	Elasticidad hepática (Fitness)		F \geq 2: 7.1 KPa	F \geq 2	0.55-0.65	0.90	0.80	
			F \geq 3: 9.5 KPa	F \geq 3	0.75-0.85	0.90	0.90	
			F=4: 12.5 KPa	F=4	0.85	0.90-0.95	0.90-0.95	
Sabadell's NIHCED	Edad \geq 60 años	13 puntos	Presencia de fibrosis significativa: >6	Presencia de Fib sign	0.72	0.763	0.79	72.5%
	T.Protrombina \geq 1.1	10 puntos						
	Plaquetas \leq 100.000	15 puntos						
	AST/ALT \geq 1	10 puntos						
	Hipertrofia lóbulo caudado	6 puntos	Presencia de cirrosis: \geq 22	Presencia de cirrosis	0.86	0.90		90%
	Atrofia lóbulo hepático derecho	15 puntos						
	Esplenomegalia \geq 13 cm	7 puntos						

ANEXO IV: CARTA DE PRESENTACIÓN

Unidad de Hepatología
Corporació Sanitària Parc Tauli

Sabadell, 10 de Noviembre de 2009

Estimado señor/señora:

Nos ponemos en contacto con usted dado que ha sido visitado previamente en nuestra Unidad de hepatología por presentar una hepatitis crónica por virus C.

La hepatitis por virus C con los años puede evolucionar de forma asintomática, por lo que está indicado pasados unos años hacer una reevaluación del estado actual de su hepatitis, y así poder ofrecerles nuevas recomendaciones.

Agradecidos por su atención, a continuación le adjuntamos día y hora de visita con un médico de nuestra Unidad.

Atentamente,

Unidad de Hepatología
Corporació Sanitària Parc Tauli

Unitat d' Hepatologia
Corporació Sanitària Parc Taulí

Sabadell, 10 de Novembre de 2009

Distingit senyor/senyora:

Ens posem en contacte amb vostè donat que ha sigut prèviament visitat en la nostra Unitat d'Hepatologia per presentar una hepatitis crònica per virus C.

La hepatitis per virus C amb els anys pot evolucionar de forma assintomàtica motiu pel qual està indicat passats uns anys fer una revaluació de l'estat actual de la seva hepatitis i Així pogué oferir-li noves recomanacions.

Agraïts per la seva atenció, a continuació li adjuntem dia i hora de visita amb un metge de la nostra Unitat

Atentament,

Unitat de Hepatologia
Corporació Sanitària Parc Taulí

ANEXO V: CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO DEL PACIENTE.

Estudio sobre Factores pronósticos en la evolución de la hepatitis crónica por HVC.

Yo, D/Dña

He leído la hoja de información que se me ha entregado y he comprendido su contenido.

He podido hacer preguntas sobre ello.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con el/la Dr/Dra.

Comprendo que mi participación es totalmente voluntaria y que puedo retirarme del estudio:

- En cualquier momento y cuando quiera.
- Sin tener que dar explicaciones.
- Sin que repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

.....

.....

Nombre del paciente

Firma

.....

.....

Nombre del investigador

Firma

Sabadell, de de 2008

HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PARTICIPANTE.

(Real decreto 561/93)

Estudio sobre Factores pronósticos en la evolución de la hepatitis crónica por HVC.

CONFIDENCIAL

Estimado Sr.

Introducción

La hepatitis crónica por virus C es muy frecuente en nuestro país. Afecta a un 2-3% de la población. La presencia de la infección puede comportar como consecuencia el desarrollo de una cirrosis hepática en el 20-30% de los afectados., siendo en la actualidad la causa más frecuente de transplante hepático.

La detección precoz de cirrosis hepática en estos pacientes es fundamental para desarrollar un programa eficaz de detección de complicaciones.

En nuestro Servicio hemos elaborado y validado un índice predictivo de hepatitis crónica por virus C versus cirrosis hepática, basado en datos analíticos y ecográficos, que podría permitir detectar cirrosis hepática sin necesidad de biopsia hepática

Objeto de la Investigación

El objetivo del estudio es evaluar si hay una correlación entre el estadio histológico de la hepatitis y el índice predictivo a lo largo del tiempo.

Para ello, aquellos pacientes con hepatitis crónica por virus C que fueron valorados en el Servicio de Hepatología mediante la realización de una biopsia hepática se volvería a realizar una **anamnesis detallada, análisis de sangre y una ecografía hepática** para calcular el índice actual. En función de los resultados obtenidos se

propondría la realización de una nueva **biopsia hepática** para conocer el grado de fibrosis hepática en los que no se pueda establecer con las exploraciones anteriormente realizadas. Las muestras de la biopsia hepática serían procesadas y almacenadas de la forma habitual en Anatomía Patológica y no serían utilizadas para ningún otro estudio.

Además, se recogerá una muestra de **suero** (a través del mismo análisis de sangre) que será congelada para futuros estudios sobre la cirrosis hepática y ciertos componentes inflamatorios de la sangre de los que sería previamente informado. En ningún momento se realizarán estudios genéticos, dado que se trata de una muestra de suero.

Queremos desarrollar esta actividad con el máximo respeto de los derechos individuales, según los postulados aceptados internacionalmente por las Naciones Unidas y la Comisión Europea (Acta de Helsinki de 1975 revisada en 1983) y Convenio de Oviedo de 1997). Por ello, la investigación cuenta con la supervisión del Comité de Ética del Hospital Parc Tauli, que vela por el cumplimiento de los postulados anteriormente citados y cuyos informes son públicos. Por este motivo, le pedimos que conscientemente decida colaborar con nosotros.

¿Quién puede participar?

Pacientes con hepatitis por virus de la hepatitis C que hayan sido valorados por el Servicio de Hepatología entre Enero de 1998 y Diciembre de 2002 a los que se les haya realizado una biopsia hepática previa.

¿En qué consistirá participar en el estudio? Procedimiento

Con estos fines, le pedimos su consentimiento para poder extraer una muestra de 20 cc de su sangre, lo cual no supone ninguna complicación añadida a la de cualquier extracción de sangre y congelar parte del suero. Además, una Ecografía hepática (no dolorosa ni invasiva) y en función de los resultados obtenidos se le pediría la realización de una biopsia Hepática.

El desarrollo del estudio conlleva la creación de un registro anónimo con los datos personales de los participantes y los resultados de las pruebas. Los datos que quedarían registrados para el estudio son los siguientes:

* Datos de carácter personal: fecha de nacimiento, sexo.

* Datos clínicos: N° historia clínica, historia clínica habitual (antecedentes de enfermedades previas, medicamentos habituales) y específicos (año de diagnóstico de hepatitis C, antecedentes de transfusión sanguínea y adicción a drogas por vía parenteral, consumo de alcohol y tabaco, índice predictivo previo y biopsia hepática). Además, los resultados de la analítica, de la ecografía y la biopsia actual.

Se realizará una primera visita en la que se realizará una historia clínica completa y se solicitará la analítica y la Ecografía hepática. En una segunda visita informaremos de los resultados, y en caso que fuera necesario por la evolución de la hepatitis crónica le propondría la realización de una biopsia hepática o el inicio de controles por la Unidad de Hepatología, así como tratamiento si fuera preciso.

Paralelamente, un médico del equipo especialista establecerá contactos periódicos con usted para facilitar el seguimiento y atenderá personalmente cualquier consulta que se desee realizar sobre este estudio.

¿Cuáles son los riesgos potenciales de su participación en este estudio?

Los que entraña la realización de una biopsia hepática tal y como se detalla en el consentimiento informado de la biopsia y tal y como le informará su médico.

¿Cuáles son los beneficios de su participación?

En la actualidad, el método diagnóstico para valorar el grado de evolución de la hepatitis crónica por virus C es la biopsia hepática, siendo aconsejable su realización periódica al menos cada 5 años. El índice predictivo podría ser una herramienta útil para

el seguimiento ambulatorio de los pacientes con hepatitis crónica por virus C obviando la realización de biopsias hepáticas periódicas.

¿Se mantendrá la confidencialidad de su participación en este estudio?

En todo momento se mantendrá la confidencialidad de sus datos y siempre respetando la ley de protección de datos vigente en España. Según la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, el consentimiento para el tratamiento de sus datos personales y para su cesión es revocable. Usted puede ejercer el derecho de acceso, rectificación y cancelación dirigiéndose al investigador, el cual lo pondrá en conocimiento del promotor. Los resultados del estudio podrán ser publicados, pero no se hará referencia a su nombre ni tampoco se le identificará y los datos referenciados no permitirán remontar hasta usted. Su nombre no podrá ser desvelado fuera del consultorio médico.

¿Quién ha revisado el estudio?

El estudio ha sido revisado por representantes del Comitè Ètic d'Investigació Clínica (CEIC) del Hospital Parc Tauli (Sabadell, Barcelona).

Beneficios y compensaciones

El interés clínico de los resultados de los análisis que haremos puede repercutir directamente sobre su hepatitis crónica por virus C, al poder valorar el estado y la evolución de la misma, ya que en el caso en que se detecte un índice elevado (próximo a lo que consideremos cirrosis) o bien, en caso que se detecte cirrosis establecida, se podrá aumentar los controles clínicos sobre usted. Además, aquellos pacientes candidatos a tratamiento éste podrá iniciarse.

Si lo desea, tiene derecho a rechazar conocer los resultados de las pruebas.

Derecho a rehusar o a abandonar

La participación en este proyecto es enteramente voluntaria, usted tiene derecho a entregar sus muestras de forma anónima, si así lo desea, y por otra parte, si en algún momento desea retirarse podrá hacerlo, sin tener que dar explicación alguna.

ANEXO VI: HOJA DE RECOGIDA DE DATOS.

VARIABLES ESTUDIADAS

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

1.- DATOS DEMOGRÁFICOS

- FECHA DE NACIMIENTO (dd/mm/aa)

- SEXO:

Mujer 1

Hombre 2

2.- ANTECEDENTES

- ANTECEDENTES MÉDICOS:

- HTA No 1 Sí 2

- Año de diagnóstico:

- DM No 1 Sí 2

- Año de diagnóstico:

- DLP No 1 Sí 2

- Año de diagnóstico:

- Peso:

- Talla (cm):

- ANTECEDENTES PERSONALES:

- Transfusión sanguínea (antes del 1992) No 1 Sí 2 Desconocido 3

- ADVP No 1 Sí 2

- Ex ADVP No 1 Sí 2

- Antecedentes de Hepatitis aguda No 1 Sí 2

- Consumo de alcohol:

* Enol activo No 1 Sí 2

* Gramos de alcohol/día:

* Ex – enol No 1 Sí 2

* Fecha de abstinencia (año):

* Gramos de alcohol/día previos:

- Fumador:

* Fumador activo No 1 Sí 2

* Consumo actual de tabaco (paquetes/año):

* Ex fumador No 1 Sí 2

* Fecha de abandono de tabaco (año):

* Consumo de tabaco (paq/año) previos:

- FÁRMACOS:

1.- Antihipertensivos	No 1	Si 2
2.- Insulina	No 1	Sí 2
3.- ADOs	No 1	Sí 2
4.- Estatinas/Fibratos	No 1	Sí 2
5.- Corticoides	No 1	Sí 2
6.- Inmunosupresores	No 1	Si 2

Paquetes-año: número de años fumando x número de cigarrillos fumados al día

20

3.- ANALÍTICA GENERAL:

Fecha de la analítica del primer índice:

Fecha de la analítica actual:

- T.PROTROMBINA (anterior):

- T. PROTROMBINA (actual):

- PLAQUETAS (anterior)

- PLAQUETAS (actual)

- GOT (anterior) (U/l):

- GOT (actual) (U/l):

- GPT (anterior) (U/l):

- GPT (actual) (U/l):

- GGT (anterior):

- GGT (actual):

- Colesterol (anterior) mg/dL:

- Colesterol (actual) mg/mL:

- INR (previo) ratio:

- INR (actual) ratio

- Glucosa (anterior) mg/dL

- Glucosa (actual) mg/dL:

- Insulina (actual) μ U/mL:

- HOMA:

PCR (previo):

PCR (actual):

VGS (previo):

VSG (actual):

- Crioglobulinas (previo):

- Crioglobulinas (actual):

- CARGA VIRAL (anterior) (UI/mL):

- CARGA VIRAL (actual) (UI/mL):

- GENOTIPO:

1a ó 1b	1
2	2
3	3
4a ó 4c	4

4.- TRATAMIENTO

- TRATAMIENTO

No 1

Sí 2

- FECHA DE TRATAMIENTO:

- TIPO DE TRATAMIENTO

* IFN

No 1

Si 2

* IFN+Riv

No 1

Sí 2

* IFN pegilado+Riv

No 1

Si 2

- RESPUESTA AL TRATAMIENTO

No Respuesta

1

Recidiva post-tratamiento

2

Contraindicación al tratamiento

3

Negativa a realizar el tratamiento

4

Abandono por complicaciones

5

4.- ECO ABDOMINAL

Fecha de la anterior ecografía del score (dd/mm/aa):

Fecha de la actual ecografía (dd/mm/aa):

- Hipertrofia lóbulo caudado (anterior)	No	1	Sí	2
- Hipertrofia lob. caudado (actual)	No	1	Sí	2
- Atrofia LHD (anterior)	No	1	Sí	2
- Atrofia LHD (actual)	No	1	Sí	2
- Esplenomegalia (anterior)	No	1	Si	2
- Esplenomegalia (actual)	No	1	Si	2
- Ascitis (anterior)	No	1	Sí	2
- Ascitis (posterior)	No	1	Sí	2

5.-ÍNDICES

- Índice de Forns (anterior):

- Índice de Forns (actual):

- APRI (anterior):

- APRI (actual):

- HALT-C (anterior)

- HALT-C (actual):

- NIHCED (anterior):

- NIHCED (actual):

- Fecha de la actual biopsia hepática (dd/mm/aa):
- Índice de Knodell:
- Fibrosis Knodell:
- Piecema Necrosis (METAVIR; 1º número):
- Necrosis lobulillar (METAVIR, 2º número):
- Índice METAVIR:
- Fibrosis METAVIR:

8.- ÉXITUS

- Data:

- Causa:

- | | |
|--|---|
| - Cirrosis (insuficiencia hepatocelular) | 1 |
| - Hepatocarcinoma | 2 |
| - Infecciones/sepsis | 3 |
| - Cáncer | 4 |
| - Cardiovascular | 5 |
| - HDA | 6 |
| - Otras | 7 |

VARIABLES ESTUDIADAS

* Variables demográficas: Fecha de nacimiento, Sexo.

* Variables relacionadas con la infección por hepatitis C: Fecha de diagnóstico de la hepatitis C, antecedentes de transfusión sanguínea, antecedentes de adicción de drogas por vía parenteral, antecedentes de hepatitis aguda, carga viral inicial y genotipo del VHC, NIHCED, test de Forns y APRI en el momento inicial de evaluación, hallazgos histológicos (actividad en Knodell e índice de fibrosis).

* Presencia de descompensaciones relacionadas con evolución a cirrosis hepática: ascitis, encefalopatía hepática, hemorragia digestiva por varices esofágicas, carcinoma hepatocelular.

* Variables relacionadas con la historia natural de la hepatitis C: Consumo de alcohol (en el momento inicial de la evolución y en la actualidad), consumo de tabaco (en el momento inicial de la evolución y en la actualidad), medicación habitual, consumo de drogas por vía parenteral, índice de masa corporal, enfermedades que promuevan esteatosis hepática: diabetes mellitas, obesidad, hipertensión arterial o dislipemia.

ANEXO VII: DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS

DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS

- Cuantitativas

- * Edad: expresada en fecha de nacimiento (dd/mm/aaaa)
- * Peso: expresada en kilogramos.
- * Talla: expresada en centímetros
- * Gramos de alcohol/día (enol activo/ex enol)
- * Fecha de abstinencia alcohólica, expresado en años
- * Consumo de tabaco (activo y ex consumidor), expresado en paquetes/año
- * Fecha de abstinencia tabaco, expresado en años
- * T.Protrombina, expresado en segundos
- * INR, expresada en ratio
- * Plaquetas, expresada en células/mm³
- * GOT, expresada en Unidad/litro (U/l)
- * GPT, expresada en Unidad/litro (U/l)
- * GGT, expresada en Unidad/litro (U/l)
- * Colesterol, expresada en mg/mL
- * Glucosa, expresada en mg/dL
- * Insulina, expresada en μ U/mL
- * HOMA
- * PCR, proteína C reactiva, expresada en mg/L
- * VSG, expresada en segundos
- * Crioglobulinas, expresada en g/dL
- * Carga viral, expresada en UI/mL
- * Índice de Forns, APRI, HALT-C y NIHCED

- Cualitativas

- * Sexo: expresada como hombre o mujer
- * Antecedentes personales:
 - ✓ HTA, expresado como SI/NO
 - ✓ DM, expresado como SI/NO
 - ✓ DLP, expresado como SI/NO
 - ✓ Transfusión sanguínea antes de 1992, expresado como SI/NO/DESCONOCIDO
 - ✓ ADVP, expresado como SI/NO

- ✓ ExADVP, expresado como SI/NO
- ✓ Antecedentes de Hepatitis aguda, expresado como SI/NO
- ✓ Enol activo, expresado como SI/NO
- ✓ Ex – enol, expresado como SI/NO
- ✓ Fumador activo, expresado como SI/NO
- ✓ Ex fumado, expresado como SI/NO
- * Fármacos
 - ✓ Antihipertensivos, expresado como SI/NO
 - ✓ Insulina, expresado como SI/NO
 - ✓ ADOs, expresado como SI/NO
 - ✓ Estatinas/fibratos, expresado como SI/NO
 - ✓ Corticoides, expresado como SI/NO
 - ✓ Inmunosupresores, expresado como SI/NO
- * Genotipo, expresado como 1a o 1b, 2, 3 y 4a o 4b
- * Tratamiento, expresado como SI/NO
 - ✓ Fecha de tratamiento (dd/mm/aaa)
 - ✓ INF, expresado SI/NO
 - ✓ IFN+Riv, expresado como SI/NO
 - ✓ IFNp+RIV, expresado como SI/NO
- * Respuesta al tratamiento, expresado como no respuesta/recidiva post-tratamiento/contraindicación al tratamiento/negativa a realizarlo/abandono por complicaciones
- * Resultado de la ecografía
 - ✓ Fecha de realización (dd/mm/aaaa)
 - ✓ Hipertrofia lóbulo caudado, expresado como SI/NO
 - ✓ Atrofia de LHD, expresado como SI/NO
 - ✓ Esplenomegalia, expresado como SI/NO
 - ✓ Ascitis, expresado como SI/NO
- * Biopsia hepática
 - ✓ Fecha de realización (dd/mm/aaaa)
 - ✓ Índice de Knodell
 - ✓ Fibrosis Knodell, expresado como 0, 1, 3, ó 4
 - ✓ Piecema Necrosis (METAVIR), expresada como 0, 1, 2 ó 3
 - ✓ Necrosis lobulillar (METAVIR), expresada como 0, 1 y 2
 - ✓ Índice METAVIR, expresada como 0, 1, 2 y 3
 - ✓ Fibrosis METAVIR, expresado como 0, 1, 2, 3 ó 4
- * Causas de éxitus
 - ✓ Fecha de éxitus (dd/mm/aaa)

- * Expresada como cirrosis (insuficiencia hepatocelular); Hepatocarcinoma; Infecciones/sepsis; Cáncer; Cardiovascular; HDA; Otras

The screenshot shows a software window titled "HOMA2 Calculator". It has a "Fasting values" section with two rows of input fields. The first row is "Plasma glucose" with a value of 7.8 and units of mmol/l selected. The second row is "Insulin" with a value of 65 and units of pmol/l selected. Below these are three output fields: "%B" with 45.6, "%S" with 74.5, and "IR" with 1.3. At the bottom are four buttons: "Calculate", "Copy", "Print", and "Exit".

El HOMA (Homeostasis Model Assessment) estima el estado de la función de las células beta (%B) y la sensibilidad a la insulina (%S), en forma de porcentajes en referencia a la población normal. <http://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>

$$\text{HOMA} = \frac{[\text{glucemia}/18] \times \text{insulina}}{22.5}$$

Cutt offs: Varones: 2.25

Mujeres: 2.10

**ANEXO VIII: FÓRMULA PRONÓSTICA DE EVALUACIÓN A
CIRROSIS**

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1			FÓRMULA PRONÓSTICA DE EVOLUCIÓN A CIRROSIS									
2												
3		DM	1	no=0, si=1								
4		F3	0	no=0, si=1								
5		HTA	1	no=0, si=1								
6		Genotipo 1	0	no=0, si=1								
7		Espleno basal	0	no=0, si=1								
8		Plaquetas basal	150	10^9/L								
9		GOT basal	25									
10		Edad	40	años								
11		Forns basal	2,00									
12		APRI basal	0,50									
13		NIHCED basal	9									
14		Tiempo control-basal	9,00									
15												

50,29 %

ANEXO IX: ARTÍCULOS

Prospective evaluation of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C infection using the Sabadell NIHCED (non-invasive hepatitis C related cirrhosis early detection) index

G. Bejarano^{1,2}, M. Vergara^{1,2}, M. Gil^{1,2}, B. Dalmau^{1,2}, J. Puig^{2,3}, M. R. Bella⁴, D. Suárez⁵ and X. Calvet^{1,2}

¹Service of Digestive Diseases. ²CIBERehd. Instituto Carlos III. ³Unit of High Technology Diagnosis. ⁴Service of Anatomy. ⁵Unit of Statistics and Epidemiology. Universitat Autònoma de Barcelona. Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell, Barcelona. Spain

ABSTRACT

Introduction: liver disease resulting from chronic hepatitis C virus (HCV) infection follows an asymptomatic course towards cirrhosis and its complications in 20-40% of cases. Earlier studies demonstrated that advanced fibrosis is a prognostic factor. The "gold standard" for the evaluation of fibrosis grade is liver biopsy. Our group validated a predictive index - NIHCED - based on demographic, laboratory parameters, and echographic data to determine the presence of cirrhosis.

Objective: our objective is to evaluate whether the NIHCED score predicts the presence of advanced fibrosis in patients with chronic HCV infection.

Material and methods: this prospective study included patients with chronic HCV infection who underwent liver biopsy and were administered the NIHCED score. Fibrosis grade correlated with the NIHCED score using the ROC curve analysis and Spearman's correlation coefficient.

Results: in total 321 patients were included (male/female ratio 1.27) with a mean age of 48 ± 14 years. Liver biopsy showed that 131 (30.5%) had no fibrosis or had portal expansion while 190 (69.5%) had advanced fibrosis or cirrhosis. At a cut-off point of 6, sensitivity was 72%, specificity was 76.3%, positive predictive value (PPV) was 81%, negative predictive value (NPV) was 63.7%, and diagnostic accuracy was 72.5%, with an area under the curve (AUC) of 0.787, and a Spearman's correlation coefficient of $r = 0.65$.

Conclusions: the NIHCED score predicts the presence of advanced fibrosis in an elevated percentage of patients with a need of liver biopsy.

Key words: Hepatitis C virus liver disease. Advanced fibrosis. Predictive index. NIHCED index.

Financial support: this study was funded, in part, by a CIR grant from Corporació Parc Taulí (CEIC #2004112) and by Instituto de Salud Carlos III (C03/02 and PI 05/1157 and CIBERehd).

Received: 04-11-08.

Accepted: 24-02-09.

Correspondence: Guillermina Bejarano-Redondo. Servicio de Digestivo. Hospital de Sabadell. Institut Universitari Parc Taulí. Universitat Autònoma de Barcelona. Parc Taulí, s/n. 08208 Sabadell. Barcelona, Spain. e-mail: gbejarano@tauli.cat

Bejarano G, Vergara M, Gil M, Dalmau B, Puig J, Bella MR, Suárez D, Calvet X. Prospective evaluation of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C infection using the Sabadell NIHCED (non-invasive hepatitis C related cirrhosis early detection) index. *Rev Esp Enferm Dig* 2009; 101: 325-335.

ABBREVIATION LIST

HVB: Hepatitis B virus.
HIV: Human immunodeficiency virus.
TSI: Transferrin saturation index.
ANAs: Anti-nuclear antibodies.
PBC: Primary biliary cirrhosis.
AP: Alkaline phosphatase.
AMAs: Anti-mitochondrial antibodies.
GGT: Gamma-glutamyl transpeptidase.
ALT: Alanine transaminase.
AST: Aspartate aminotransferase.

INTRODUCTION

Currently, viral hepatitis C (HCV infection) constitutes the most prevalent cause of chronic hepatitis in developed countries. It is estimated that 3% of the world's population (170 million people) suffer from chronic HCV infection. In Spain, the prevalence has been calculated between 1.6 and 2.6% of the population, and increases progressively with age to reach 4.1% in those > 65 years (1,2). Chronic disease evolves asymptotically and, as such, is not detected in many cases.

Approximately 80% of those infected with HCV are chronic virus carriers (3,4), one third of them develop a liver crisis in the subsequent 20 years, and up to 7% of patients with cirrhosis develop hepatocellular carcinoma (4,5). However, approximately two thirds of chronic car-

riers present with a clinically asymptomatic infection that, in the absence of other adjuvant factors (alcohol consumption, HVB co-infection and/or HIV), will remain stable or progress slowly to hepatic fibrosis (6).

Several studies have shown that host factors, rather than viral factors, have a greater impact on the progression of hepatic lesions. Specifically, age, alcohol consumption and male gender appear to have a greater prognostic value *versus* genotype or viral load (7).

The "gold standard" diagnostic method to evaluate chronic HCV infection grade is liver biopsy. Some authors recommend periodic liver biopsies (8) in patients with chronic HCV infection. However, serial liver biopsies are difficult because of their associated morbidity (3%), mortality (0.03%), and low patient acceptance (9). However, it is important to detect early liver cirrhosis in order to refer these patients for appropriate follow-up, and to detect complications.

To date, several predictive markers of liver cirrhosis that include clinical, laboratory, and echographic data have been published (10-19). In our Unit we developed and validated an index predictive of chronic HCV-related hepatitis. Termed the Sabadell NIHCED (Non-Invasive, Hepatitis C-related Cirrhosis Early Detection) index, it includes several demographic, laboratory and echographic parameters (20) (Table I). A score ≥ 22 has a sensitivity of 86%, a specificity of 90%, a positive predictive value (PPV) of 68%, a negative predictive value (NPV) of 96.4%, and a diagnostic accuracy of 90% (20).

The goal of the present study was to evaluate the sensitivity, specificity, PPV, NPV, and diagnostic precision of NIHCED to determine the presence of advanced fibrosis in patients with chronic liver disease due to HCV.

Table I. NIHCED index for the prediction of chronic HCV liver disease

Variable	Points score
Age ≥ 60	13 points
Prothrombin time ≥ 1.1	10 points
Platelets $\leq 100,000$	15 points
AST/ALT ≥ 1	10 points
Caudate lobe hypertrophy	6 points
Right hepatic lobe atrophy	15 points
Splenomegaly	7 points

An index ≥ 22 has a sensitivity of 86%, a specificity of 90%, a positive predictive value (PPV) of 68%, a negative predictive value (NPV) of 96.4%, and a diagnostic accuracy of 90% for the diagnosis of HCV-related liver disease.

MATERIAL AND METHODS

The study is single-centered and prospective with patients diagnosed as having hepatitis due to HCV. The study was conducted at Hospital Parc Taulí, Sabadell (Barcelona), this being a District General Hospital serving a catchment area of 11 municipalities with responsibility for healthcare provision for 414,152 citizens.

Patient selection

Between January 1993 and July 1999 patients were prospectively and consecutively recruited from among those with HCV-associated liver disease being evaluated in the Liver Disease Unit of "Hospital Parc Taulí" (Sabadell, Barcelona).

Inclusion criteria

- Asymptomatic patients diagnosed as having hepatitis due to HCV with elevated blood levels of HCV-RNA.
- Patients who consented to have a liver biopsy to establish the grade of fibrosis.

Exclusion criteria

- Presence of any disease that has a concomitant liver involvement: hemochromatosis, Wilson's disease, chronic hepatitis due to HVB, drug-induced hepatotoxicity, HIV positivity, auto-immune hepatitis, alcoholic hepatitis. All patients had blood tests for VHB and HIV, hemochromatosis assessment (iron, ferritin, TSI), auto-immune hepatitis (ANAs, anti-smooth muscle cell antibodies), PBC (AP, AMAs), Wilson's disease (ceruloplasmin), and α -1 antitrypsin (antitrypsin levels).
- Presence of other disease with poor short-term prognosis (disseminated neoplasia, advanced renal insufficiency...).
- Cirrhosis already established (presence of portal hypertension in the form of esophageal varices, ascites or hepatocarcinoma).
- Consumption of alcohol > 20 g/d, or other drugs.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of Hospital "Parc Taulí", Sabadell (Barcelona), and designed according to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki (revised in 1983).

Clinical assessment

A total of 321 patients were included. A clinical history and detailed physical examination were performed. Once accepted into the study a blood sample was taken for laboratory analysis, and a biopsy was performed to determine the fibrosis grade resulting from HCV infection.

Laboratory testing

The following measurements were performed: complete hemogram with total leukocyte count including percentage neutrophils and lymphocytes, hemoglobin, mean corpuscular volume, platelet count, prothrombin time, al-

bumin (mg/dL), total and direct bilirubin (U/L), creatinine (mg/dL), urea (mg/dL), AP (U/L), GGT (U/L), ALT (U/L), AST (U/L), AST/ALT ratio, and gamma globulins.

Hepatic echography

A Doppler-echography of the liver analyzed 13 echographic variables. The variables included in the NIHCED index and statistically related to liver fibrosis grade were:

- Hypertrophy of the caudate lobe (diameter > 4 cm).
- Right hepatic lobe atrophy (longitudinal diameter < 9 cm).
- Splenomegaly (> 13 cm).

Echograms were performed with a Toshiba 140 and Aloka SSD-650 equipment (Toshiba Medical Systems, Zoetermeer, Netherlands; Aloka España SL, Madrid; Spain), with 3.5 or 3.75 MHz. All tests were performed by a single experienced echographer at the UDIAT Center of Hospital Parc Taulí, Sabadell.

The NIHCED score was calculated for each patient using data obtained from laboratory tests and hepatic echograms. The maximum time lapse between NIHCED index determination and liver biopsy was 3 months.

Liver biopsy

All patients had an echographically-guided liver biopsy performed using a tru-cut needle. The biopsy sample was fixed in FAA (formaldehyde, alcohol, acetic acid) and embedded in paraffin. The mean size of biopsy samples measured 11.6 mm, with a mean number of fibrous tracts of 12.2. Sample tissue was stained with hematoxylin-eosin, Masson trichrome stain, and 1% picosirius red solution. All samples were evaluated by an experienced pathologist at the Pathology Department, Hospital "Parc Taulí", Sabadell. The pathologist was blinded with respect to the provenance of samples and laboratory results of patients. Fibrosis grade was scored on the Knodell scale, which classifies fibrosis into four stages (F0, absence of fibrosis; F1, fibrosis expansion; F3, porto-portal fibrosis bridges; F4, cirrhosis). Stages \geq F3 are considered "advanced fibrosis".

Statistical analyses

Data obtained were processed using SPSS version 15.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, USA).

Student's t-test was used for comparison between continuous variables. When distribution normality could not be assumed, or when sample size was < 10 observations in any group, the Mann-Whitney U test was applied. Comparison of proportions was performed with the χ^2

test for categorical variables. When the 2 x 2 contingency table of expected values was < 5, Fisher's exact test was applied. Correlations of quantitative variables (NIHCED score) with ordinal variables (liver fibrosis, Knodell index) were tested using Spearman's ρ coefficient. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

The Knodell grade of fibrosis was correlated with the NIHCED score using the receiver operating characteristic – ROC – curve analysis, from which sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) were calculated to differentiate patients into two groups: those with an absence of histologically demonstrable fibrosis (F0) or only one fibrous portal expansion (F1), and those who presented with advanced fibrosis (F3) or established cirrhosis (F4) according to the Knodell index.

RESULTS

Demographic data

A total of 321 patients were included. Mean age was 48 ± 14 years, with a male-to-female ratio of 1.27.

Analysis of the NIHCED score as a predictor of advanced fibrosis in patients with chronic HCV infection

All 321 patients were segregated into two groups: those with an index of non-significant fibrosis (Knodell F0 and F1), for a total of 131 patients (30.5%), and those with advanced fibrosis (Knodell F3 and F4), for a total of 190 patients (69.5% of the total).

Table II summarizes the laboratory values included in the NIHCED index according to fibrosis grade in the biopsy sample. Table III summarizes the echographic data of the NIHCED score according to fibrosis grade.

From the ROC curve analysis a score > 6 was selected as providing the best combination of sensitivity, specificity and diagnostic accuracy in detecting advanced fibrosis (Knodell F3 and F4). Sensitivity was 72%, speci-

Table II. Laboratory variables of patients included in the NIHCED score segregated on the biopsy-evaluated Knodell grade of fibrosis

<i>Knodell fibrosis grade (patient numbers)</i>	<i>Age (years)</i>	<i>PT (ratio)</i>	<i>Platelets (10⁹/L)</i>	<i>AST/ALT ratio</i>
F0 (33)	38	1	217,000	0.6
F1 (98)	43	1	213,000	0.63
F3 (127)	50	1.05	162,000	0.7
F4 (63)	59	1.12	112,000	0.92

PT: prothrombin time; AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase.

Table III. Echographic data from NIHCED in patients segregated according to fibrosis grade based on the Knodell biopsy score

Knodell index	Splenomegaly	Caudate lobe hypertrophy	Right hepatic lobe atrophy
	n (%)	n (%)	n (%)
F0	1 (3)	0	0
F1	7 (7)	6 (6)	1 (1)
F3	17 (13)	21 (16)	7 (5.5)
F4	34 (54)	43 (70)	27 (43)

ficity 75%, PPV 81%, NPV 63.7%, and diagnostic accuracy 72.5%. The area under the curve (AUC) was 0.79 (95% CI: 0.74-0.84). The positive and negative predictive values of the likelihood ratio indicated an LR (+) of 3.04 and LR (-) of 0.37 (Fig. 1).

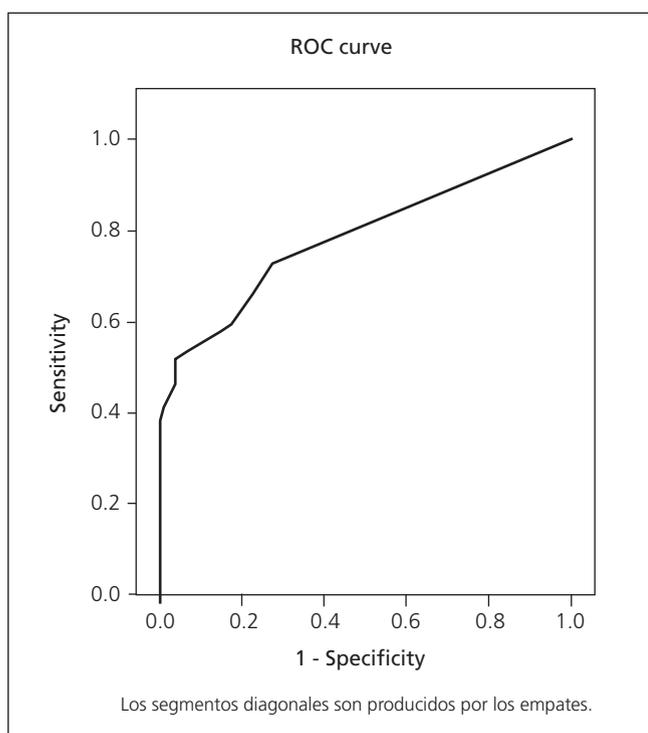


Fig. 1. ROC curve of NIHCED scores for advanced hepatic fibrosis. A cutoff score > 6 was selected as providing the best combination of sensitivity, specificity and diagnostic accuracy to detect advanced fibrosis (Knodell index F3 and F4). Sensitivity was 72%, specificity was 76.3%, PPV was 81%, NPV was 63.7%, and diagnostic accuracy was 72.5%. The area under the curve (AUC) was 0.79 (95% CI: 0.74-0.84).
 Curva ROC del NIHCED para fibrosis hepática avanzada. Se seleccionó una puntuación mayor de 6 como la mejor combinación de sensibilidad, especificidad y exactitud diagnóstica (accuracy) para detectar fibrosis avanzada (Knodell F3 y F4). La sensibilidad fue del 72%, especificidad del 76,3%, VPP del 81%, VPN del 63,7% y una exactitud diagnóstica (accuracy) del 72,5%. El área bajo la curva fue de 0,79 (95%, IC 0,74-0,84).

The correlation between the Knodell fibrosis index and the NIHCED score had a Spearman's correlation coefficient of $r = 0.65$.

NIHCED score as predictive of advanced fibrosis: estimation cohort and validation cohort

All 321 patients were divided randomly into two groups, the estimation cohort and the validation cohort, composed of 217 and 104 patients, respectively.

ROC curve analyses were applied to both groups with a cutoff score of > 6. The estimation cohort had a sensitivity of 70%, specificity of 74%, and diagnostic accuracy of 72% with an AUC of 0.77 (95% CI: 0.71-0.83). The calculation of the positive and negative predictive values of the likelihood ratio showed an LR (+) of 2.7 and LR (-) of 0.40.

The validation cohort showed a sensitivity of 76%, specificity of 76.3%, and diagnostic accuracy of 76% with an AUC of 0.82 (95% CI: 0.74-0.90). The calculation of the positive and negative likelihood ratio showed an LR (+) of 3.21 and LR (-) of 0.31 (Table IV).

Table IV. ROC curve values obtained for the NIHCED index in the estimation and validation cohorts

Cohort	n	AUC	Sen (%)	Spec (%)	PPV (%)	NPV (%)	Accuracy (%)	LH (+)
Estimation	217	0.772	70	74	78.2	65.1	72	2.7
Validation	104	0.82	76	76.3	85	64.4	76	3.21

AUC: area under the curve; Sen: sensitivity; Spec: specificity; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; LH: likelihood ratio.

DISCUSSION

Several authors have developed non-invasive indices for the diagnosis of cirrhosis or of advanced fibrosis in order to avoid the need for liver biopsy (21-23). Liver biopsy continues to be the "gold standard" for fibrosis assessment despite the method having a considerable percentage of false positive and false negative results from sample errors and inter-observer differences.

Despite all these shortcomings, and the availability of several predictive indices, there has been no substitute for biopsy as ideal method as yet. Some authors have suggested combining several indices as a non-invasive method of diagnosis (24,25) even though there are some cases that continue to need liver biopsy for complete characterization. Leroy et al. (24) compared the histology results obtained in 180 chronic HCV infection patients with 6 different non-invasive indices. Their results showed that only one third of patients remained correctly categorized when combining the FibroTest (26) and the APRI (22). Castera et al. (27) highlighted that when Fi-

broTest results were combined with that of transient elastometry findings coincided for 70-80% of patients, and liver biopsy could be avoided for 77% of patients with advanced fibrosis.

All non-invasive indices can detect extreme values with sufficient certainty, but only offer partial information on liver fibrosis for patients with intermediate values, and thus liver biopsy remains the "gold standard".

A considerable inconvenience of some of these non-invasive indices such as the FibroTest (28) is that they have not been done on a routine basis, given that they provide a mathematical formula that combines, for instance, 5 variables (FibroTest): total bilirubin, GGT, haptoglobin, alpha 2-microglobulin, and apolipoprotein A1. As such, this index is difficult to apply in the majority of routine clinical practices. Furthermore, the high economic cost of these tests means that they cannot be performed routinely in patients with chronic HCV infection.

A group at the University of Sydney (29) has proposed a non-invasive model of fibrosis progression that includes age, AST, cholesterol, alcohol use, and insulin resistance (30). Romera et al. validated the Sydney index in patients with hepatitis and showed a negative predictive value of 70%, as compared to the 93% communicated by the authors (31). As such, it would appear that adding the high-cost insulin resistance test to this index would provide a greater benefit to the NIHCED index as generated and validated by our group.

The NIHCED score, as with other non-invasive indices such as that of Forns (21), uses parameters that are routinely obtained in clinical practice to evaluate the follow-up of patients with chronic HCV infection. Chronic HCV infection, as has been commented upon earlier, is a highly prevalent infection affecting 2-3% of the Spanish population. This implies that exhaustive follow-up by specialists of all infected patients would nearly collapse hepatology specialist healthcare.

Due to the infection often being asymptomatic, many of these patients are not identified until their diagnosis in the course of other explorations. Conversely, a large group of asymptomatic patients are young with an active work life but are not monitored on a regular basis, or the monitoring is left to the family doctor or primary-care physician. The NIHCED score was designed with the intention of offering an attainable tool to the family doctor that is easy to score and to evaluate, and which serves to detect advanced fibrosis early. Applying the tool would identify a subgroup of patients with advanced fibrosis who would need to be referred for specialist monitoring. Many authors have demonstrated that advanced fibrosis is a fundamental diagnostic factor in patients with chronic HCV infection. Its presence in a biopsy would indicate that progression in these patients is faster than in those with no fibrosis or only fibrous expansion in their biopsy samples (32).

The NIHCED score contains the liver US data that add prognostic factors to the index. Of note, in 27% of pa-

tients newly diagnosed with hepatocarcinoma there is no previous evidence of advanced fibrosis or of cirrhosis and it is a liver echogram that guides the diagnosis on which to initiate treatment (33). One shortcoming that can occur in the development and validation of an index incorporating echographic data is that of an inter-observer bias. In the NIHCED score only one experienced radiologist performed all echograms and evaluated all sonographic findings.

The results of our study indicate that all patients > 65 years of age have a high probability of presenting with advanced fibrosis. Previous studies evaluating this conclusion identified that one of the main factors influencing disease progression was clinical evolution time, which is one that clearly increases with age (34-36).

The combination of laboratory and echographic data is of value because, in patients in whom laboratory parameters are within the normal range, the radiological data included in our index may be of greater value. Caudate lobe hypertrophy, splenomegaly, or right hepatic lobe atrophy would suggest, with a high degree of sensitivity and specificity, that a patient has advanced fibrosis.

Currently, there are gaps in the use of these non-invasive methods. One of the few studies in patients with hepatitis not caused by HCV (i.e., we know how these indices function in patients infected with HCV) indicated that other mechanisms exist that induce hepatic lesions such as hepatitis B or alcohol, but that reliability is unknown. The ability of the NIHCED score to distinguish between advanced fibrosis and absence of fibrosis or portal expansion (cutoff score > 6) has a sensitivity of 72%, specificity of 76.3%, PPV of 81%, NPV of 63.7%, and diagnostic accuracy of 72.5% with an AUC of 0.79 (95% CI: 0.74-0.84). These results are as good, if not better, as those obtained with other non-invasive methods.

In conclusion, the NIHCED score is as effective as other non-invasive indices for determining the presence of advanced fibrosis. The addition of echographic data introduces prognostic factors into the information obtained. In comparison to other non-invasive methods, the NIHCED score is simple and easy to apply in any outpatient clinic, whether specialist or primary care.

Future studies are needed to evaluate the utility of these non-invasive methods for the long-term follow-up of patients with chronic HCV infection.

REFERENCES

1. Domínguez A, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Salleras L. Community-based seroepi-demiological survey of HCV infection in Catalonia, Spain. *J Med Virol* 2001; 65: 688-93.
2. Riestra S, Fernández E, Leiva P, García S, Ocio G, Rodrigo L. Prevalence of hepatitis C virus infection in the general population of northern Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 477-82.

3. Di Bisceglie AM. Hepatitis C. *Lancet* 1998; 9099: 351-5.
4. Alter HJ, Seeff LB. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis* 2000; 20(1): 17-35.
5. Di Bisceglie AM. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1997; 26(3 Supl. 1): 34S-38S.
6. Alberti A, Vario A, Ferrari A, Pistis R. Chronic hepatitis C – natural history and cofactors. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22 (Supl. 2): 74-8.
7. Poynard T, Bedossa P, Opolon P, for the OBSVRIC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC group. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997; 349: 825-32.
8. Dienstag JL. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S152-S160.
9. Garcia-Tsao G, Boyer JL. Outpatient liver biopsy: how safe is it? *Ann Intern Med* 1993; 118: 150-3.
10. Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 44-8.
11. Reedy DW, Loo AT, Levine RA. AST/ALT ratio > 1 is not diagnostic of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Digestive Dis Sci* 1998; 43: 2156-9.
12. Kaul V, Friedenbergl FK, Braitman LE, Anis U, Zaeri N, Fazili J, et al. Development and validation of a model to diagnose cirrhosis in patients with hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2623-8.
13. Oberti F, Valsesia E, Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Aubé C, et al. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology* 1997; 113: 1609-16.
14. 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.
15. Bonacini M, Hadi G, Govindarajan S, Lindsay L. Utility of a discriminant index for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1302-4.
16. Colli A, Fraquelli M, Andreoletti M, Marino B, Zuccoli E, Conte D. Severe liver fibrosis or cirrhosis: accuracy of US for detection-Analysis of 300 cases. *Radiology* 2003; 227: 89-94.
17. Aubé C, Oberti F, Korali N, Namour MA, Loisel D, Tanguy JY, et al. Ultrasonographic diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *J Hepatol* 1999; 30: 472-8.
18. Gaiani S, Gramantieri L, Venturoli N, Piscaglia F, Siringo S, D'Errico A, et al. What is the criterion for differentiating chronic hepatitis from compensated cirrhosis? A prospective study comparing ultrasonography and percutaneous liver biopsy. *J Hepatol* 1997; 27: 979-85.
19. Gomez, de la Cámara A. All that neurologists would like to know about sensitivity, specificity and predictive values. *Neurología* 2003; 18 (Supl. 2): 11-8.
20. Obrador BD, Prades MG, Gómez MV, Domingo JP, Cueto RB, Rué M, et al. A predictive index for the diagnosis of cirrhosis in hepatitis C based on clinical, laboratory, and ultrasound findings. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 57-62.
21. 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.
22. Wai CT, Greenson 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.
23. 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.
24. 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.
25. Leroy V, Hilleret MN, Sturm N, Trocme C, Renversez JC, Faure P, et al. Prospective comparison of six non-invasive scores for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007; 46: 775-82.
26. Sebastiani G, Vario A, Guido M, Noventa F, Plebani M, Pistis R, et al. Stepwise combination algorithms of non-invasive markers to diagnose significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006; 44: 686-93.
27. Castera 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.
28. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pironi 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.
29. Sud A, Hui JM, Farrell GC, Bandara P, Kench JG, Fung C, et al. Improved prediction of fibrosis in chronic hepatitis C using measures of insulin resistance in a probability index. *Hepatology* 2004; 39: 1239-47.
30. Fartoux L, Poujol-Robert A, Guechot J, Wendum D, Poupon R, Serfaty L. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut* 2005; 54: 1003-8.
31. Romera M, Corpas R, Romero-Gómez M. La resistencia a la insulina en la valoración no invasiva de la fibrosis en pacientes con hepatitis C: Estudio comparativo de métodos bioquímicos. *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98: 161-9.
32. Alberti A, Chemello L, Benvegñù. Natural history of hepatitis C. *EASL Internacional Consensus Conference on Hepatitis C. J Hepatol* 1999; 31(Supl. 1): 17-24.
33. Vergara M, Gil M, Dalmau B, Ribot R, Navarro C, Martín A, et al. Historia natural del carcinoma hepatocelular en una cohorte de pacientes de un hospital comarcal. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 682-7.
34. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-62.
35. Alberti A, Vario A, Ferrari A, Pistis R. Chronic hepatitis C – natural history and cofactors. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22(Supl. 2): 74-8.
36. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, Anania FA, Schaeffer M, Galai N, et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral and environmental factors. *JAMA* 2000; 284: 450-6.

Evaluación de la fibrosis hepática en la hepatitis crónica por virus C mediante la aplicación prospectiva del *Sabadell's NIHCED score* (*Sabadell's Non Invasive, Hepatitis C Related-Cirrhosis Early Detection Score*)

G. Bejarano^{1,2}, M. Vergara^{1,2}, M. Gil^{1,2}, B. Dalmau^{1,2}, J. Puig^{2,3}, M. R. Bella⁴, D. Suárez⁵ y X. Calvet^{1,2}

¹Servicio de Aparato Digestivo. ²CIBERehd. Instituto Carlos III. ³Unidad de Diagnóstico de Alta Tecnología. ⁴Servicio de Anatomía Patológica. ⁵Unidad de Estadística y Epidemiología. Universitat Autònoma de Barcelona. Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell, Barcelona

RESUMEN

Introducción: la hepatitis crónica por VHC cursa de forma asintomática desarrollando cirrosis hepática y sus complicaciones en un 20-40% de los casos. En estudios previos se ha demostrado que la fibrosis avanzada es un factor pronóstico fundamental. El método *gold standard* para la valoración del grado de fibrosis es la biopsia hepática. Nuestro grupo ha validado un índice predictivo, el NIHCED (*Sabadell's Non Invasive, Hepatitis C related-Cirrhosis Early Detection Score*), basado en datos demográficos, analíticos y ecográficos para determinar la presencia de cirrosis.

Objetivo: nuestro objetivo es el de evaluar si el NIHCED predice la presencia de fibrosis avanzada en los pacientes con hepatitis crónica por virus C.

Material y métodos: estudio prospectivo donde se incluyeron pacientes con hepatitis crónica por VHC. Se les realizó una biopsia hepática y el NIHCED. El grado de fibrosis se correlacionó con el valor del NIHCED mediante curva de ROC y el coeficiente de correlación de Spearman.

Resultados: se incluyeron un total de 321 pacientes (ratio hombre/mujer 1,27) con una edad media de 48 ± 14 años. La biopsia hepática mostró que 131 (30,5%) no tenían fibrosis o era expansión portal, mientras que 190 (69,5%) tenían fibrosis avanzada o cirrosis. Para un punto de corte de 6 puntos, la sensibilidad fue del 72%, especificidad del 76,3%, VPP del 81%, VPN del 63,7% y una precisión diagnóstica del 72,5%, con un área bajo la curva fue de 0,787 y un coeficiente de correlación de Spearman de $r = 0,65$.

Conclusiones: el NIHCED predice la presencia de fibrosis avanzada en un elevado porcentaje de pacientes sin necesidad de realizar biopsia hepática.

Palabras clave: Hepatitis por virus C. Fibrosis avanzada. Índice predictivo. Índice NIHCED.

LISTA DE ABREVIATURAS

VHB: Virus de la hepatitis B.
 VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.
 IST: Índice de saturación de transferrina.
 ANA: Anticuerpos antinucleares.
 CBP: Cirrosis biliar primaria.
 FA: Fosfatasa alcalina.
 AMA: Anticuerpos antimitocondriales.
 GGT: Gamma glutamil transpeptidasa.
 ALT: Alanina transaminasa.
 AST: Aspartato aminotransferasa.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el virus de la hepatitis C (VHC) constituye la causa más prevalente de hepatitis crónica en los países desarrollados. Se estima que el 3% de la población mundial (170 millones de personas) sufre una infección crónica por VHC. En España, se calcula una prevalencia que oscila entre el 1,6 y el 2,6% de la población y aumenta de forma progresiva con la edad, alcanzando el 4,1% en los mayores de 65 años (1,2). Evoluciona a la cronicidad de forma asintomática y por tanto en muchos casos no es detectada.

El 80% de los pacientes infectados por VHC son portadores crónicos (3,4). Un tercio de ellos desarrollarán una cirrosis hepática en los siguientes 20 años, y hasta un 7% de los pacientes con cirrosis presentarán un carcinoma hepatocelular (4,5). Sin embargo, aproximadamente dos tercios de los portadores crónicos presentarán una infección crónica clínicamente asintomática, que en ausencia de otros factores adyuvantes (consumo de alcohol, coinfección por VHB y/o VIH) se mantendrá estable o con una lenta evolución del grado de fibrosis hepática (6).

Soporte financiero: este estudio ha sido financiado en parte por la Beca CIR de la Corporació Parc Taulí, Código CEIC: 2004112 y por el Instituto de Salud Carlos III (C03/02 and PI 05/1157 and CIBERehd).

Se ha demostrado en diferentes estudios que son los factores del huésped, más que los factores virales, los que influyen en la progresión de la lesión histológica. En concreto, la edad, el consumo de alcohol y el sexo masculino parecen tener mayor valor pronóstico que el genotipo o la carga viral (7).

El método diagnóstico *gold estándar* para valorar el grado de evolución de la hepatitis crónica por virus C es la biopsia hepática. Algunos autores aconsejan la realización de biopsias hepáticas periódicas (8) en los pacientes con hepatitis crónica por virus C. Sin embargo, la práctica seriada de biopsias hepáticas es difícil de plantear dada la morbilidad (3%), mortalidad (0,03%) y difícil aceptación (9). Por otro lado, es importante detectar de forma precoz el desarrollo de cirrosis hepática, para incluir estos pacientes en un seguimiento adecuado de detección de complicaciones.

Hasta la actualidad, se han publicado diversos marcadores predictivos de cirrosis hepática que incluyen datos clínicos, analíticos o ecográficos (10-19). En nuestra Unidad hemos elaborado y validado un índice predictivo de hepatitis crónica por virus C (*NIHCED- Sabadell's non Invasive, Hepatitis C related-Cirrhosis Early Detection Score*). El índice evalúa una serie de parámetros demográficos, analíticos y ecográficos (20) (Tabla I). Un índice igual o superior a 22 tiene una sensibilidad del 86%, una especificidad del 90%, un valor predictivo positivo del 68%, un valor predictivo negativo del 96,4% y una exactitud diagnóstica del 90% (20).

Tabla I. Índice predictivo de hepatitis crónica por virus C (NIHCED)

Variable	Puntuación
Edad \geq 60	13 puntos
Tiempo de protrombina \geq 1,1	10 puntos
Plaquetas \leq 100.000	15 puntos
GOT/GPT \geq 1	10 puntos
Hipertrofia del lóbulo caudado	6 puntos
Atrofia del lóbulo hepático derecho	15 puntos
Esplenomegalia $>$ 13 cm	7 puntos

Un índice igual o superior a 22 tiene una sensibilidad del 86%, una especificidad del 90%, un valor predictivo positivo del 68%, un valor predictivo negativo del 96,4% y una exactitud diagnóstica del 90%, para diagnóstico de cirrosis hepática por VHC.

El objetivo del presente estudio fue el de evaluar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo y precisión diagnóstica del NIHCED para determinar la presencia de fibrosis avanzada en los pacientes con hepatitis crónica por VHC.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha desarrollado un estudio clínico unicéntrico, prospectivo con pacientes diagnosticados de hepatitis por

VHC. El estudio se ha realizado en el Hospital Parc Taulí de Sabadell (Barcelona), hospital comarcal con 800 camas y una población de referencia de 414.152 habitantes (11 municipios).

Selección de pacientes

Se seleccionaron de forma prospectiva y consecutiva aquellos pacientes con hepatitis crónica por VHC evaluados en la Unidad de Enfermedades Hepáticas del Hospital Parc Taulí (Sabadell, Barcelona) desde enero de 1993 hasta julio de 1999.

Criterios de inclusión

— Pacientes asintomáticos diagnosticados de hepatitis crónica por VHC con niveles de RNA-VHC elevados en sangre.

— Pacientes que aceptarán la realización de una biopsia hepática para conocer el grado de fibrosis.

Criterios de exclusión

— Presencia de enfermedad con posible afectación hepática concomitante: hemocromatosis, enfermedad de Wilson, hepatitis crónica por virus B, fármacos hepatotóxicos. HIV positivo, hepatitis autoinmune, o hepatitis alcohólica. A todos los pacientes se les realizaron serologías para VHB y VIH, estudio de hemocromatosis (hierro, ferritina e IST), hepatitis autoinmune (ANA, anticuerpos anti-músculo liso), CBP (FA, AMA), enfermedad de Wilson (ceruloplasmina) y déficit de alfa-antitripsina (niveles de antitripsina).

— Presencia de otra enfermedad (neoplasia diseminada, insuficiencia renal avanzada...) con mal pronóstico vital a corto plazo.

— Cirrosis hepática ya establecida (presencia de hipertensión portal en forma de varices esofágicas, ascitis o hepatocarcinoma).

— Consumo de alcohol $>$ 20 g/día o de otras drogas.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Parc Taulí de Sabadell (Barcelona) y diseñado según las guías éticas de 1975 de la Declaración de Helsinki revisada en 1983.

Metodología clínica

Se incluyeron un total de 321 pacientes. A todos los pacientes se les realizó una historia clínica y una exploración física por aparatos. Una vez aceptada su inclusión en el estudio, se les realizó una analítica, una ecografía hepática y una biopsia hepática para el estudio del grado de fibrosis de la hepatitis por VHC.

Metodología de laboratorio

Se realizaron las siguientes determinaciones: hemograma completo con recuento de leucocitos totales con el porcentaje de neutrófilos y linfocitos, hemoglobina, volumen corpuscular medio, recuento de plaquetas, tiempo de protrombrina (ratio), albúmina (mg/dl), bilirrubina total y directa (U/l), creatinina (mg/dl), urea (mg/dl), FA (U/l), GGT (U/l), ALT (U/l); AST (U/l), AST/ALT ratio y gamma globulinas.

Metodología de la ecografía hepática

Se realizó una ecografía-doppler hepática estudiando 13 variables ecográficas. El estudio estadístico que dio lugar al NIHCED, dio como resultado que las variables estadísticamente avanzadas relacionadas con el grado de fibrosis hepática fueron:

- Hipertrofia del lóbulo caudado (diámetro > 4 cm).
- Atrofia del lóbulo hepático derecho (diámetro longitudinal < 9 cm).
- Esplenomegalia (> 13 cm).

El estudio ecográfico fue realizado usando el equipo Toshiba 140 y Aloka SSD-650 (Toshiba Medical systems, Zoetermeer, Netherlands; Aloka España SL, Madrid; España), con 3,5 ó 3,75 MHz. Todas las pruebas fueron realizadas por un único y experimentado ecografista del centro UDIAT del Hospital Parc Taulí de Sabadell.

Con los datos obtenidos de la analítica y la ecografía hepática se calculó el NIHCED en cada paciente. El intervalo máximo entre la determinación del índice NIHCED y la biopsia hepática fue de tres meses.

Metodología de la biopsia hepática

A todos los pacientes se les realizó una biopsia hepática guiada por ecografía mediante aguja de tru-cut y fijados en FAA (formaldehído, alcohol, y ácido acético) y embebidas en parafina. Las secciones hepáticas biopsiadas presentaban un tamaño medio de 11,6 mm con un número medio de tractos fibrosos de 12,2, y fueron teñidas con hematoxilina-eosina, tricromo de Masson y rojo pricosirio solución al 1%. Todas las muestras fueron revisadas por un patólogo experimentado de la Unidad de Anatomía Patológica del Hospital Parc Taulí de Sabadell, el cual desconocía la historia clínica y los resultados de laboratorio de los pacientes. El grado de fibrosis fue evaluado según la escala de Knodell, que clasifica la fibrosis en cuatro estadios (F0, ausencia de fibrosis; F1, expansión fibrosa; F3, puentes de fibrosis porto-portales; F4, cirrosis), considerando los estadios \geq F3 como "fibrosis avanzada".

Metodología estadística

Los datos obtenidos se procesaron con el paquete SPSS 15.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, EE. UU.).

Se utilizó la *t* de Student para la comparación entre variables continuas. Cuando no fue posible asumir normalidad o cuando el tamaño muestral resultó inferior a 10 observaciones en algún grupo, se aplicó el test de la *U* de Mann Withney. Para la comparación de proporciones se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para las variables categóricas. Cuando en la tabla de 2 x 2 alguno de los valores esperados fue inferior a 5 se aplicó la prueba exacta de Fisher. La correlación de variables cuantitativas (*NIHCED score*) con variables ordinales (fibrosis hepática Knodell) se testó mediante el coeficiente ρ de Spearman. Un valor de *p* menos de 0,05 fue considerado como estadísticamente significativo.

El grado de fibrosis según el índice de Knodell se correlacionó con el valor del *NIHCED score* mediante curva ROC. Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN), diferenciando a los pacientes en dos grupos: aquellos con histológicamente tenían ausencia de fibrosis (F0) o únicamente expansión fibrosa portal (F1) de los que presentaban fibrosis avanzada (F3) o cirrosis establecida (F4) según el índice de Knodell.

RESULTADOS

Datos demográficos

Se incluyeron un total de 321 pacientes con una edad media de 48 ± 14 años y una ratio hombre-mujer de 1,27.

Análisis del *NIHCED score* como predictor de la presencia de fibrosis avanzada en los pacientes con hepatitis crónica por virus C

Los 321 pacientes se clasificaron en dos grupos: aquellos con un índice de fibrosis no significativo (Knodell F0 y F1) con un total de 131 pacientes (30,5%), y otro grupo de pacientes con fibrosis avanzada (Knodell F3 y F4) con un total de 190 pacientes (69,5% del total).

En la tabla II se muestran los valores analíticos incluidos en el NIHCED de los pacientes según el grado de fibrosis de la biopsia. En la tabla III se muestran los datos

Tabla II. Valores analíticos de los pacientes incluidos en el NIHCED según el grado de fibrosis de la biopsia

Grado de fibrosis (nº pacientes)	Edad (años)	TP (ratio)	Plaquetas (10 ⁹ /L)	AST/ALT
F0 (33)	38	1	217.000	0,6
F1 (98)	43	1	213.000	0,63
F3 (127)	50	1,05	162.000	0,7
F4 (63)	59	1,12	112.000	0,92

TP: tiempo de protrombina; AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina transaminasa.

Tabla III. Datos ecográficos del NIHCED presentes en los pacientes según el grado de fibrosis

	Esplenomegalia nº pacientes (%)	Hipertrofia de lóbulo caudado n (%)	Atrofia de lóbulo hepático derecho n (%)
F0	1 (3%)	0	0
F1	7 (7%)	6 (6%)	1 (1%)
F3	17 (13%)	21 (16%)	7 (5,5%)
F4	34 (54%)	43 (70%)	27 (43%)

ecográficos del NIHCED presentes en los pacientes según el grado de fibrosis.

Sobre estos datos y su curva ROC, se seleccionó una puntuación mayor de 6 como la mejor combinación de sensibilidad, especificidad y exactitud diagnóstica (*accuracy*) para detectar fibrosis avanzada (Knodell F3 y F4). La sensibilidad fue del 72%, especificidad del 75%, VPP del 81%, VPN del 63,7% y una exactitud diagnóstica (*accuracy*) del 72,5%. El área bajo la curva fue de 0,79 (95%, IC 0,74-0,84). Se calcularon las razones de verosimilitud positiva y negativa del test (*likelihood ratio*) con resultado de LR (+) 3,04 y LR (-) 0,37 (Fig. 1).

Se realizó el estudio de correlaciones entre el índice de fibrosis hepática Knodell vs. el NIHCED score mediante la correlación de Spearman con un coeficiente de $r = 0,65$.

Análisis del NIHCED score como predictor de fibrosis avanzada: cohorte de estimación y cohorte de validación

Los 321 pacientes se dividieron de forma aleatoria en 2 grupos, la cohorte de estimación, formada por 217 pacientes y la cohorte de validación, formada por 104 pacientes.

Se realizaron curvas ROC en el grupo de estimación y en el de validación para el punto de corte mayor de 6. La cohorte de estimación presentaba una sensibilidad del 70%, especificidad del 74% y una exactitud diagnóstica (*accuracy*) del 72% con una AUC 0,77 (95%, IC 0,71-0,83). Se calcularon las razones de verosimilitud positiva y negativa del test (*likelihood ratio*) con resultado de LR (+) 2,7 y LR (-) 0,40.

La cohorte de validación presenta una sensibilidad del 76%, especificidad del 76,3% y una exactitud diagnóstica (*accuracy*) del 76% con una AUC 0,82 (95%, IC 0,74-0,90). Se calcularon las razones de verosimilitud positiva y negativa del test (*likelihood ratio*) con resultado de LR (+) 3,21 y LR (-) 0,31 (Tabla IV).

DISCUSIÓN

Diversos autores han desarrollado índices no invasivos para el diagnóstico de cirrosis o fibrosis avanzada obviando la realización de la biopsia hepática (21-23). La

Tabla IV. Valores de la curva ROC obtenidos del índice para el grupo de estimación y validación

	n	AUC	S (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)	Accuracy (%)	LH (+)
Estimación	217	0,772	70	74	78,2	65,1	72	2,7
Validación	104	0,82	76	76,3	85	64,4	76	3,21

AUC: área bajo la curva; S: sensibilidad; Esp.: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LH: *likelihood ratio*.

biopsia hepática continúa siendo la prueba *gold standard* para valorar la fibrosis, a pesar de que puede presentar un porcentaje no despreciable de falsos positivos y falsos negativos, determinado por el error muestral y por la diferencia inter-observador.

A pesar de todos estos inconvenientes y de la existencia de múltiples índices predictivos o del fibroscan todavía ninguno de ellos ha logrado sustituir a la biopsia como sistema ideal. Algunos autores sugieren la combinación de varios índices como un método no invasivo de diagnóstico (24,25), si bien, a pesar de ello continúa habiendo algunos casos que precisan de biopsia hepática para su total caracterización. Leroy y cols. (24) compararon los resultados histológicos obtenidos en 180 pacientes con hepatitis crónica por VHC con seis diferentes índices no invasivos. Sus resultados mostraron que únicamente un tercio de los pacientes quedaban clasificados de forma correcta cuando se combinaba el FibroTest (26) y el APRI (22). Castera y cols. (27) señalaron que cuando el resultado del FibroTest se combina con el de la elastometría transitoria y los resultados son coincidentes, lo que sucede en un 70-80% de los pacientes, la realización de la biopsia hepática se podría evitar en el 77% de los pacientes con fibrosis avanzada.

Por tanto, todos los índices no invasivos permiten detectar con bastante exactitud los valores extremos, pero para los pacientes con valores intermedios ofrecen sólo una información parcial sobre la fibrosis hepática siendo la biopsia hepática la prueba *gold standard*.

Un gran inconveniente de algunos de estos índices no invasivos como el FibroTest (28), es que las determinaciones que se han de realizar no son rutinarias, dado que es una fórmula matemática que combina cinco variables: bilirrubina total, GGT, haptoglobina, alfa 2-microglobulina y apolipoproteína A1. Por tanto, es difícil de determinar en la mayoría de centros hospitalarios, siendo además su coste económico elevado por lo que no se puede realizar de forma habitual en los pacientes con hepatitis crónica por VHC.

Un grupo de la Universidad de Sydney (29) ha propuesto un modelo no invasivo de predicción de la fibrosis que incluye junto con la edad, AST, colesterol y consumo de alcohol, la resistencia a la insulina como factor que influye en la progresión de la enfermedad (30), Romera y cols. validaron el índice de Sydney en pacientes con hepatitis presentando un valor predictivo

negativo del 70%, frente al 93% comunicado por los autores (31), por lo que no parece que añadir el índice de resistencia a la insulina, que es una prueba de un coste económico superior añada ventajas al índice validado por nuestro grupo.

El NIHCED, al igual que otros índices no invasivos como el de Forns (21), utiliza parámetros habituales en la clínica diaria para valorar el seguimiento de los pacientes con hepatitis crónica por VHC, lo que hace que económicamente sea posible en la práctica habitual. La hepatitis crónica por VHC, como ya se ha comentado previamente es una infección altamente prevalente en nuestro medio afectando al 2-3% de la población española. Eso significa que un seguimiento exhaustivo de todos los pacientes infectados por parte del especialista colapsaría la atención especializada en hepatología.

Muchos de estos pacientes y debido a que la infección es asintomática, simplemente no son conocidos al no estar diagnosticados. Por otro lado, hay un grupo amplio de pacientes asintomáticos y jóvenes con una vida laboral activa que no se controlan de forma periódica o lo realizan a través de su médico de familia. El NIHCED está diseñado con la intención de ofrecer una herramienta asequible a los médicos de familia (fácil de puntuar y de evaluar) que sirva para detección precoz de fibrosis avanzada, que implicaría que el subgrupo de pacientes con fibrosis avanzada sería el que tendría que ser derivado para control especializado. Muchos autores previamente han mostrado que la fibrosis avanzada es un factor pronóstico fundamental en los pacientes con hepatitis crónica por VHC. Su presencia en una biopsia indicaría que la progresión en estos pacientes es más rápida que en aquellos que la biopsia muestra ausencia de fibrosis o únicamente expansión fibrosa (32).

El NIHCED aporta los datos de la ecografía hepática que permite añadir factores pronósticos a los obtenidos propiamente como valor absoluto del índice. Vale la pena hacer notar que en 27% de los pacientes diagnosticados *de novo* de hepatocarcinoma en nuestro medio, no se conocía previamente que presentarían fibrosis avanzada o cirrosis y fue la ecografía hepática la que aportó el diagnóstico para iniciar el tratamiento (33). Un inconveniente que puede presentar la elaboración y validación de un índice que valora datos ecográficos es el sesgo interobser-

vador. En el NIHCED únicamente un radiólogo fue el que realizó todas las ecografías y evaluó todos los signos incluidos en las mismas.

Los resultados de nuestro estudio suponen que todos los pacientes mayores de 65 años tienen una alta probabilidad de presentar fibrosis avanzada. Los estudios realizados previamente avalarían esta conclusión dado que uno de los principales factores que influiría en la progresión de la enfermedad es el tiempo de evolución que obviamente aumenta con la edad (34-36).

La combinación de datos de laboratorio y ecográficos permite que en pacientes con una analítica estrictamente normal, la presencia de datos radiológicos significativos incluidos en nuestro índice: hipertrofia del lóbulo caudado, esplenomegalia o atrofia del lóbulo hepático derecho nos permitan sospechar con una alta sensibilidad y especificidad que el paciente puede presentar una fibrosis avanzada.

En la actualidad hay lagunas en el uso de estos métodos no invasivos. Una es la escasez de estudios en pacientes con hepatopatías no debidas a VHC, es decir, sabemos cómo funcionan estos índices con pacientes infectados con hepatitis C, pero si presentan otros mecanismos que interfieren en la lesión hepatocitaria como hepatitis B o alcohol no se conoce su fiabilidad. La capacidad del NIHCED para distinguir entre fibrosis avanzada y fibrosis ausente o expansión portal (puntuación de corte mayor de 6) presenta una sensibilidad del 72%, especificidad del 76,3%, VPP del 81%, VPN del 63,7% y una precisión diagnóstica del 72,5% y un área bajo la curva fue de 0,79 (intervalo de confianza 0,74-0,84). Estos resultados son, por otro lado, equivalentes a los obtenidos con otros métodos no invasivos.

En conclusión, el NIHCED es tan eficaz como otros índices no invasivos para determinar la presencia de fibrosis avanzada. Asimismo aporta datos ecográficos que permiten añadir factores pronósticos a la información obtenida y por otro lado y en comparación con los otros métodos no invasivos es sencillo y fácil de aplicar en cualquier consulta externa, ya sea del especialista o del médico de familia.

Futuros estudios habrían de estar dirigidos a la evaluación prospectiva de la utilidad de estos métodos no invasivos para el seguimiento a largo plazo de los pacientes con hepatitis crónica por VHC.

Usefulness of indirect noninvasive methods in predicting progression to cirrhosis in chronic hepatitis C

Mercedes Vergara^{a,f}, Guillermina Bejarano^a, Blai Dalmau^{a,f}, Montserrat Gil^a, Mireia Miquel^{a,f}, Jordi Sanchez-Delgado^{a,f}, Meritxell Casas^a, Jordi Puig^c, Eva Martinez-Bauer^a, Angelina Dosal^b, Maria Lopez^b, Laura Moreno^b, Oliver Valero^e, Maria-Rosa Bella^d and Xavier Calvet^{a,f}

Background and aims The ability of noninvasive methods to predict the development of cirrhosis has not been established. We evaluated the ability of three noninvasive methods [the Forns index, the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index (APRI), and the Non-Invasive Hepatitis-C-related Cirrhosis Early Detection (NIHCED) score] to determine the risk of developing cirrhosis in chronic hepatitis C.

Methods Consecutive patients with chronic hepatitis C who had undergone liver biopsy between 1998 and 2004 were eligible. We used the three methods to evaluate patients at baseline and at follow-up (4–10 years later). When these methods yielded discordant or indeterminate results, a second liver biopsy was performed. Logistic regression models were fitted for each method to predict whether cirrhosis would appear and to predict long-term mortality from cirrhosis.

Results We included 289 patients in our study. The mean scores at baseline and at follow-up, respectively, were as follows: Forns, 5.47 ± 1.95 and 6.56 ± 2.02 ; APRI, 1.1 ± 2.33 and 1.4 ± 1.53 ; and NIHCED, 7.79 ± 11.45 and 15.48 ± 15.28 . The area under the receiver operating characteristic curve for predicting cirrhosis was 0.83 for Forns, 0.79 for APRI, and 0.76 for NIHCED. The sensitivity and specificity for predicting cirrhosis, respectively, were 75 and 71% for Forns (cutoff 4.7), 86 and 42% for APRI (cutoff 0.48), and 41 and 82% for NIHCED (cutoff 0). The area under the receiver operating characteristic curve for predicting mortality was 0.86 for Forns, 0.79 for APRI, and 0.84 for NIHCED.

Conclusion Indirect noninvasive markers could help identify patients with chronic hepatitis C at risk of progression to cirrhosis. Eur J Gastroenterol Hepatol 27:826–833

Copyright © 2015 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Introduction

Hepatitis C affects over 180 million people worldwide [1]. It is the most common chronic viral infection in the USA [2], where 3.9 million individuals are infected [3]. After 10–30 years, persistent HCV infection may be asymptomatic or may manifest with a wide spectrum of complications of cirrhosis [4].

Evaluation of fibrosis is crucial in the assessment of chronic liver disease. Histologic assessment is considered the best method for evaluating fibrosis. However, liver biopsy is an invasive procedure that has severe complications in about 0.5% of cases [5]; moreover, its accuracy is limited by sampling heterogeneity [6] and interobserver

and intraobserver variations [7]. Semiquantitative histologic assessment of fibrosis has high variability, especially among nonexpert pathologists [7,8]. Thus, it would be useful to have a reliable method for the noninvasive assessment of liver fibrosis [9].

In recent years, several noninvasive methods for fibrosis staging have been proposed [9,10]. Hyaluronate was proposed as a serologic marker [11]. Imbert-Bismut *et al.* [12] proposed the first score combining several serum markers to predict clinically significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C (FibroTest). Following this, other scores such as the aspartate aminotransferase (AST)-to-platelet ratio index (APRI) [13], Fibrometer [14], and Hepascore [15] were validated in patients with chronic hepatitis C. Other fibrosis scores proposed include FIB-4 [16] and the Forns index [17]. Finally, our group elaborated and validated the Non-Invasive Hepatitis-C-related Cirrhosis Early Detection (NIHCED) score, a noninvasive method to predict the presence of significant fibrosis and cirrhosis by combining clinical variables (age), laboratory results (AST-to-alanine aminotransferase ratio, platelet count, and prothrombin time ratio), and ultrasonography findings (right hepatic lobe atrophy, splenomegaly, and caudate lobe hypertrophy) [18,19]. Recently, Boursier *et al.* [20] showed that a combination of two complementary blood tests is more accurate than liver biopsy

European Journal of Gastroenterology & Hepatology 2015, 27:826–833

Keywords: aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index, biopsy needle, chronic hepatitis C, Forns index, liver cirrhosis diagnosis, natural history

^aHepatology Unit, Digestive Disease System, Sabadell's Hospital, ^bDay Hospital, Digestive Disease System, Sabadell's Hospital, Departments of ^cRadiology,

^dPathology, UDIAT-CD, Sabadell's Hospital, Universitat Autònoma de Barcelona, Sabadell, ^eDepartment of Applied Statistics, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona and ^fCIBERehd, Health Institute Carlos III, Madrid, Spain

Correspondence to Mercedes Vergara, PhD, Hepatology Unit, Digestive Disease System, Sabadell's Hospital, Parc Taulí 1, 08290 Sabadell, Barcelona

Tel: +34 937 231 010x20280; fax: +34 937 160 646; e-mail: mvergara@tauli.cat

Received 11 November 2014 **Accepted** 23 February 2015

and appears to be a simple and accurate method for the baseline assessment of prognosis in clinical practice.

Another noninvasive approach to staging fibrosis is transient elastography (FibroScan®; Echosens, Paris, France), which measures liver stiffness by ultrasonography. Its diagnostic performance is similar to that of serological markers [21,22]. However, this technique has some limitations, particularly in obese patients, and is operator-dependent [23].

Several studies have analyzed the usefulness of noninvasive methods in determining fibrosis. However, some have focused on heterogeneous cohorts with various causes of chronic liver diseases [24], some have used mortality as the primary outcome variable rather than liver decompensation [25,26], and others have focused on other liver diseases, such as chronic hepatitis B [27]. Thus, none of these studies have focused specifically on comparing noninvasive methods for predicting cirrhosis in patients with chronic hepatitis C.

We aimed to determine the usefulness of three noninvasive methods (the Forns index, the APRI, and the NIHCED score) in predicting progression to cirrhosis in patients with chronic hepatitis C.

Patients and methods

The study protocol conformed to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki and was approved by our institution's ethics committee.

Study design

This was a prospective longitudinal study of a cohort of patients with chronic hepatitis C. Patients were evaluated at baseline and at follow-up 4–10 years later.

Baseline evaluation

All patients with chronic hepatitis C who had undergone liver biopsy between January 1998 and December 2004 (baseline evaluation) at our center were evaluated.

Inclusion criteria at the baseline evaluation were as follows:

- (1) Histologic specimen longer than 15 mm, including more than 10 portal tracts [23].
- (2) No evidence of liver cirrhosis at initial biopsy.
- (3) Alcohol intake less than 30 g/day in men and less than 20 g/day in women.
- (4) No concomitant diseases.
- (5) No hepatitis B or HIV coinfection.

At the baseline evaluation, all patients had undergone a standardized evaluation within 3 months before biopsy, including:

- (1) Clinical history taking and physical examination.
- (2) Laboratory tests to rule out the following concomitant diseases: hemochromatosis (iron, ferritin, and iron saturation index), autoimmune hepatitis (antinuclear antibody panel or smooth-muscle nuclear antibody test), primary biliary cirrhosis (alkaline phosphatase and mitochondrial antibodies), Wilson's disease

(ceruloplasmin), and α -antitrypsin deficiency (α -antitrypsin levels).

- (3) Protocolized ultrasound examination immediately before biopsy to evaluate signs of chronic liver disease and to collect data for the calculation of NIHCED. All ultrasound examinations and liver biopsies were performed by the same radiologist (J.P.).

During the baseline evaluation, we prospectively recorded all parameters necessary to calculate the scores for the three noninvasive methods. NIHCED scores were calculated prospectively during the baseline evaluation; however, APRI and Forns scores were calculated retrospectively because these indices had not been developed and validated when the biopsies were obtained. Table 1 reports the variables included in the scores and their respective cutoff values for diagnosing significant disease.

Follow-up period

The period from liver biopsy until follow-up evaluation in 2008 ranged from 4 to 10 years. During this period, some patients received antiviral treatment, whereas others with mild disease at biopsy and normal liver enzyme levels were managed by their primary care physicians. Some patients developed complications of liver disease, and some of these patients died. Finally, some patients were lost to follow-up (Fig. 1).

Follow-up evaluation

From January through December 2008, all patients eligible for the study were contacted by mail or telephone and invited for an outpatient visit to review their medical history and determine whether they met the inclusion criteria. Patients who could not be contacted were excluded. We also excluded patients who had achieved a sustained virological response after antiviral treatment, had developed serious concurrent diseases during the period between the baseline and follow-up evaluations, or refused to participate in the study or dropped out at any stage.

The aims and procedures of the study were thoroughly explained to the patients. Those who agreed to participate and signed the informed consent form underwent a prospective follow-up evaluation that included clinical history taking, physical examination, laboratory tests, and Doppler ultrasound (all Doppler ultrasound examinations were performed by the same radiologist who performed the initial ultrasound examination). Laboratory and Doppler ultrasound findings were used to calculate the follow-up scores for the three noninvasive methods.

Noninvasive classification of fibrosis

Patients were classified as having 'absent or mild fibrosis' when the three noninvasive methods found no significant fibrosis at the follow-up evaluation. Patients were classified as having cirrhosis when they had had specific complications of cirrhosis caused by portal hypertension or hepatic insufficiency or their scores on APRI and NIHCED were greater than the cutoff values defined in the validation of these indexes (2 and 21, respectively); the validation of the Forns index did not define a cutoff value for cirrhosis.

Table 1. Description of noninvasive scores evaluated in the study

Noninvasive score	Parameters evaluated	Formula applied	Cutoff level
Forns index	Platelet count γ -Glutamyl transferase Cholesterol Age	$7.811 - 3.131 \times \ln [\text{platelet count}] + 0.781 \times \ln [\text{GGT}] + 3.467 \times \ln [\text{age}] - 0.014 \times [\text{cholesterol}]$	Absence–mild fibrosis: < 4.2 Significant fibrosis: > 6.9
APRI	Aspartate aminotransferase Platelet count	Aspartate aminotransferase/platelet count $\times 10^9 \times 100$	Absence–mild fibrosis: < 0.5 Significant fibrosis: > 1.5 Liver cirrhosis: > 2
NIHCEd	Age > 60 years Platelet count $\leq 10^5$ Aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase ≥ 1 Prothrombin ratio ≥ 1.1 Splenomegaly > 13 cm Right lobe atrophy Caudate hypertrophy	13 15 10 10 7 15 6	Absence–mild fibrosis: 0 Significant fibrosis: ≥ 6 Liver cirrhosis: > 21

Variables included the formulas and cutoff values for absence–mild fibrosis ($F=0-1$), significant fibrosis ($F=3$), and cirrhosis ($F=4$).

APRI, aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index; GGT, γ -glutamyl transferase; NIHCEd, Noninvasive Hepatitis-C-Related Cirrhosis Early Detection.

When the results of the noninvasive scores were discordant or indeterminate, patients were subjected to a new liver biopsy to stage fibrosis within 3 months of the noninvasive assessment.

Biopsy procedure and histologic examination

Ultrasound-guided intercostal or subcostal liver biopsies were obtained using 14 G Tru-cut needles (Argon Medical Devices, Inc., Athens, Georgia, USA). Specimens were fixed in a formalin–alcohol–acetic acid solution and embedded in paraffin. Thick sections were stained with hematoxylin and eosin, Masson's trichrome, and 0.1% picosirius red solution. An experienced liver pathologist (M.-R.B.) reviewed both baseline and follow-up specimens and used the METAVIR scale to assess the degree of fibrosis [8]. The fibrosis degree was classified as absence of fibrosis ($F=0$), mild fibrosis ($F=1$), moderate fibrosis ($F=2$), significant fibrosis ($F=3$) and cirrhosis ($F=4$). The results of histologic examinations were considered the gold standard.

Statistical analysis

Descriptive statistics for quantitative variables are expressed as mean \pm SD or median and range (when the distribution was asymmetric). Categorical variables are expressed as absolute and relative frequencies. To compare baseline and follow-up values, we used paired *t*-tests for quantitative variables and the McNemar test for qualitative variables.

To predict the appearance of cirrhosis, we fitted logistic regression models for each noninvasive method, defining the response variable as the presence/absence of cirrhosis at the follow-up evaluation and including the baseline values of index and age, time between baseline and follow-up biopsies, and the interaction between them as covariates. To assess the predictive ability of each model, we calculated the area under the receiver operating characteristic (ROC) curve with its respective 95% confidence interval (95% CI) and determined the cutoff value to maximize sensitivity and specificity. We also used the logistic regression models to determine the accuracy of the baseline score for each method in predicting long-term mortality.

We set statistical significance at *P* less than 0.05. We used SAS v9.3 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) for all analyses.

Results

Demographic and clinical characteristics

A flowchart of the study is shown in Fig. 1. A total of 483 patients were initially evaluated for inclusion in the study; 60 patients met one or more exclusion criteria and 134 additional patients were excluded because it was impossible to contact them or they had had a sustained virological response (Fig. 1). Thus, 289 patients were eligible for the follow-up evaluation; we excluded nine of these patients for severe comorbidities and 32 because they did not provide informed consent for follow-up biopsy. In addition, 46 (16%) patients died between the baseline biopsy and the follow-up [29 of causes unrelated to chronic hepatitis C and 17 because of complications of cirrhosis: hepatocellular carcinoma ($n=6$), liver failure ($n=7$), and variceal bleeding ($n=4$); all patients who died of complications of cirrhosis had stage 3 fibrosis on the baseline biopsy]. Thus, 202 patients (101 men; mean age, 58 ± 12.3 years; age range, 33–83 years) were included in the final analyses.

The median time between the baseline biopsy and follow-up evaluation was 7 years (range 4–10 years). Table 2 summarizes the laboratory and ultrasound findings at baseline and follow-up evaluations. A total of 134 (66%) patients underwent antiviral treatment but did not achieve a sustained virological response: 87 (65.2%) of these patients did not respond to treatment, 29 (21.5%) relapsed, and 18 (13.3%) abandoned treatment due to adverse events. Antiviral treatment consisted of interferon alone in 60 patients (44.8%), interferon plus ribavirin in 43 (32.1%), and pegylated interferon plus ribavirin in 53 (39.6%); 113 (55.9%) patients received a single treatment, 20 (9.9%) received two different treatments, and one (0.5%) received three different treatments.

The baseline biopsy detected significant fibrosis in 80 (39.6%) patients. At the baseline evaluation, the mean NIHCEd score was 7.79 ± 11.45 , the mean Forn's index score was 5.47 ± 1.95 , and the mean APRI score was

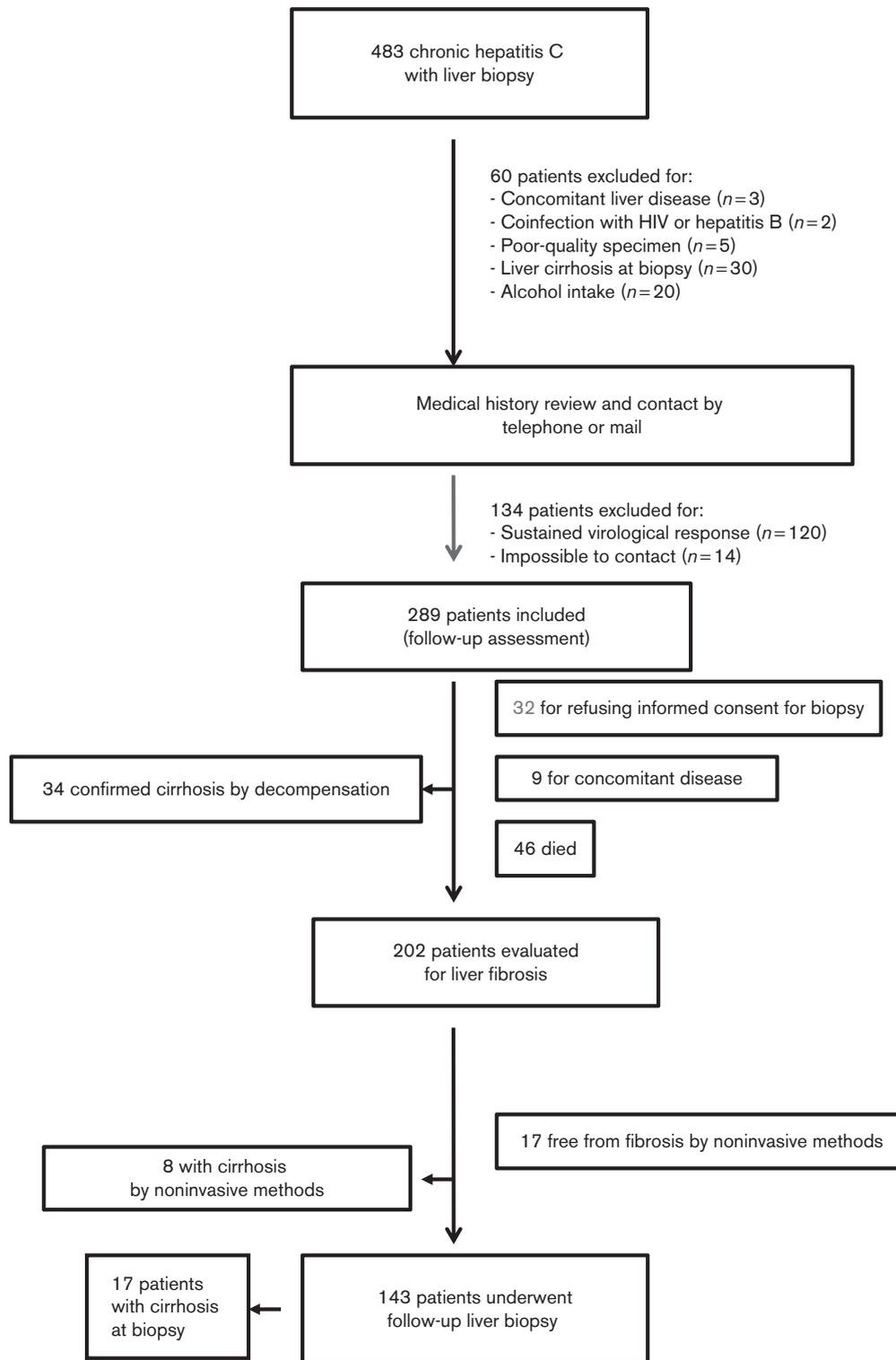


Fig. 1. Flowchart for the study.

1.1±2.33. No severe complications were observed secondary to liver biopsy.

Specific complications of cirrhosis occurred between the baseline biopsy and the follow-up evaluation in 34 (11.8%) patients, including ascites in 18 (5.5%), variceal bleeding in seven (2.4%), hepatic encephalopathy in seven (2.4%), and hepatocellular carcinoma in 22 (7.6%).

Only 17 (5.9%) patients were classified by all three noninvasive methods as having ‘absent or mild’ fibrosis (fibrosis stage 0 or 1). Liver biopsy was obviated in eight patients who were classified as having cirrhosis on both the APRI and NIHCED. Finally, 143 (70.8%) patients underwent follow-up biopsy (Fig. 1). Table 3 reports the fibrosis scores in the baseline and follow-up biopsies of

Table 2. Demographic, clinical, laboratory, and ultrasound characteristics of patients included in both baseline and follow-up assessments

	Baseline biopsy (n = 202)	Follow-up assessment (n = 202)	P-value
Age (mean ± SD) (years)	47.6 ± 11.9	58.3 ± 12.3	< 0.0001
Fibrosis stage: significant fibrosis [n (%)] ^a	80 (39.6)	130 (64.4)	< 0.0001
Prothrombin time (ratio) (mean ± SD)	1.03 ± 0.06	1.03 ± 0.10	0.3449
Platelets (mean ± SD)	195.9 ± 59.4	175.6 ± 67.8	< 0.0001
Aspartate aminotransferase (mean ± SD) (IU/l)	66.1 ± 41.5	67.7 ± 45.4	0.6149
Alanine aminotransferase (mean ± SD) (IU/l)	106.9 ± 74.2	81.0 ± 55.2	< 0.0001
γ-Glutamyl transferase (mean ± SD) (IU/l)	67.7 ± 62.0	86.2 ± 102.0	0.0053
Cholesterol (mean ± SD) (mg/dl)	181.2 ± 34.4	172.5 ± 35.2	< 0.0001
Right lobe atrophy [n (%)]	1 (0.5)	4 (2.0)	> 0.25
Caudate hypertrophy [n (%)]	5 (2.5)	28 (13.9)	< 0.0001
Splenomegaly [n (%)]	22 (10.9)	58 (28.7)	< 0.0001

^aSignificant fibrosis assessed histologically (≥ F2).

Table 3. Results of fibrosis stage by liver biopsy in baseline and follow-up evaluations

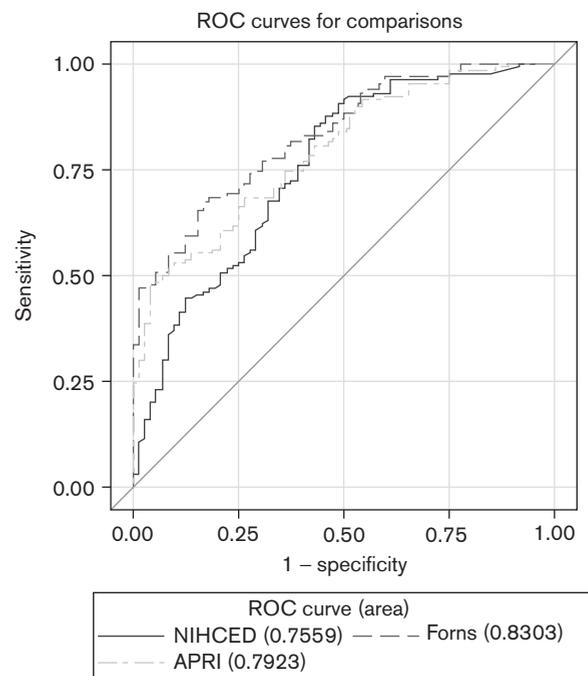
Baseline fibrosis index	Fibrosis at follow-up evaluation					Total
	F0	F1	F2	F3	F4	
F0	10	13	11	7	2	43
F1	4	21	15	7	5	52
F2	0	4	5	7	2	18
F3	2	1	6	13	8	30
Total	16	39	37	34	17	143

these patients. Fibrosis stage improved significantly between the baseline and follow-up biopsies in 17 patients: three (17.6%) of these had not received antiviral treatment, 12 (70.6%) had received one antiviral treatment, and two (11.8%) had received two or three antiviral treatments.

Finally, of the 289 patients selected (Fig. 1), 76 (26.3%) developed cirrhosis between liver biopsy and follow-up assessment. Of the 289 patients initially evaluated, 34 (11.8%) were diagnosed secondary to a specific complication of the cirrhosis and another 17 patients (5.9%) died secondary to these complications. Of the 202 patients finally selected for liver biopsy, eight (2.8%) were diagnosed by noninvasive methods and 17 (5.9%) by liver biopsy. The mortality related to cirrhosis during the period of study was 17 (5.9%) of the total of 46 patients who died.

Usefulness of baseline scores in predicting progression to cirrhosis

The logistic regression models showed that the three indices were good for predicting cirrhosis (Fig. 2). The mean NIHCED score at the follow-up assessment was 15.48 ± 15.28 . For the NIHCED model (adjusted by age and time between biopsies), the area under the ROC curve was 0.76 (95% CI = 0.69–0.83). The optimum cutoff value for predicting the development of cirrhosis (>0) yielded 41% sensitivity and 82% specificity. The mean APRI score on the follow-up assessment was 1.40 ± 1.53 . For the APRI model, the area under the ROC curve was 0.79 (95% CI = 0.73–0.85). The optimum cutoff value for predicting the development of cirrhosis (≥ 0.48) yielded 86% sensitivity and 42% specificity. The mean Forns score at the follow-up assessment was 6.56 ± 2.02 . For the Forns index model, the area under the ROC curve was 0.83

**Fig. 2.** Receiver operating characteristic (ROC) curves for the three non-invasive methods for predicting the risk for cirrhosis.

(95% CI = 0.78–0.89), the best predictive power of the three models. The optimum cutoff value for predicting the development of cirrhosis (≥ 4.7) yielded 75% sensitivity and 71% specificity.

Usefulness of baseline scores in predicting long-term mortality

Only 17 (5.9%) of the 289 patients included in the study died from complications of cirrhosis during the period between the baseline assessment and the follow-up assessment. Comparing the scores of these patients with those of the 202 patients who underwent both assessments, we found higher mortality rates (18.5%) among patients with a NIHCED score greater than 0 and among those with a Forns index of up to 4.7 (11.2%); mortality among patients with an APRI of up to 0.48 (8.9%) was slightly higher than in the entire group. In the logistic regression models, the area under the ROC curves was 0.83 for NIHCED, 0.86 for Forns, and 0.79 for APRI (Fig. 3).

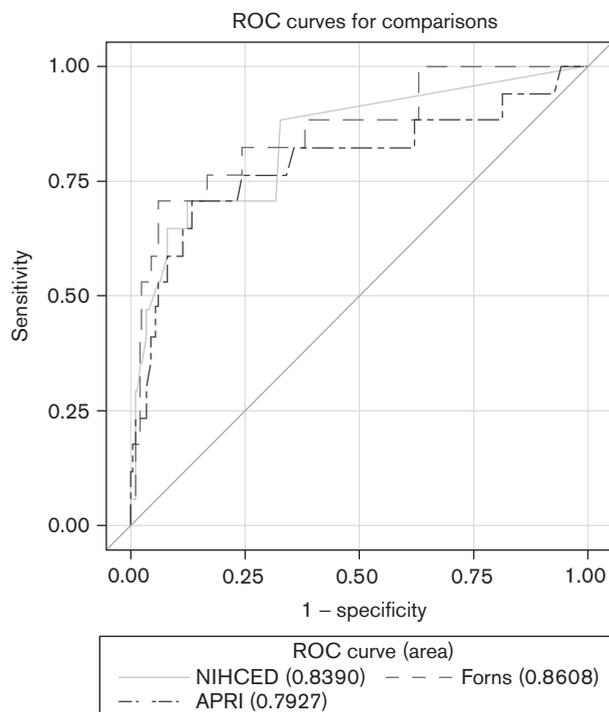


Fig. 3. Receiver operating characteristic (ROC) curves for the three non-invasive methods for predicting the risk of mortality due to chronic hepatitis C.

Discussion

The variability in progression in chronic hepatitis C is remarkable and influenced by several factors [28,29]. The American Association for the Study of Liver Disease [30] and the European Association for the Study of the Liver Disease [31] consider biopsy the gold standard for assessing the extent of liver disease in chronic hepatitis C. This year, the European Association finally accepted non-invasive methods of assessing fibrosis in patients with chronic hepatitis C, reserving liver biopsy for uncertain cases or for those in which other causes of fibrosis might be likely [32].

The most important result of our study is that non-invasive methods can predict progression to cirrhosis. To date, few studies have validated noninvasive methods to predict progression to cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. Of the three methods analyzed, the most specific cutoff value for predicting progression to cirrhosis (82%) was NIHCED greater than 0. This means that patients with a NIHCED score greater than zero were at risk of developing cirrhosis. The NIHCED score contains seven variables. The presence of any of these variables represented a risk factor for developing cirrhosis in the future. In fact, all these variables except age are specific signs of cirrhosis. Age older than 60 years is considered a risk factor in the NIHCED score, and previous studies on the natural history of chronic hepatitis C determined that age was a risk factor for developing more advanced fibrosis [33–35]. The Forns index yielded the highest sensitivity (75%) for predicting progression to cirrhosis. The mean follow-up period of 7 years shows that these non-invasive methods can be used to monitor and follow-up patients with chronic hepatitis C.

Another important result of our study is that the three scores were also useful in predicting the probability of mortality due to chronic hepatitis C. One clear advantage of noninvasive methods is that they can be used in any medical center. Other advantages include the low cost of serological methods and the fact that they can be repeated as often as the physician considers necessary. The advantage of NIHCED over noninvasive methods based solely on serological markers is the added information provided by ultrasound findings [18,19], although possible inter-observer bias in ultrasound findings is a limitation of the method. In our study, interobserver bias was avoided because both the baseline and follow-up ultrasound examinations and biopsies were performed by the same radiologist. Another limitation of the NIHCED method is that all patients over 60 years are considered at risk of developing cirrhosis because age older than 60 years is heavily weighted (13 points out of a possible 76 points).

Using two or more noninvasive methods increases diagnostic accuracy [36–41]. Sebastiani *et al.* [40] avoided 50% of liver biopsies by using an algorithm to identify significant fibrosis and avoided more than 80% of biopsies by using an algorithm to identify cirrhosis. Furthermore, serological markers are highly sensitive and specific for ruling out fibrosis. The Forns index had a negative predictive value of 96% to exclude significant fibrosis [17]. In our study, the noninvasive methods obviated liver biopsy in 17 (8.4%) patients by ruling out significant fibrosis and in eight (3.9%) patients by confirming cirrhosis through concurrent classification on the basis of APRI and NIHCED scores. In our study, the number of patients in whom matching noninvasive methods avoided liver biopsy was small; hence, the possible bias from including patients who did not undergo a follow-up liver biopsy is very low. Furthermore, the accuracies of the three noninvasive methods as evidenced by the area under the ROC curves are similar to those reported in other studies. Although it may seem surprising that only 12% of follow-up biopsies could be avoided, it is important to remember that non-invasive methods are most effective at the extremes of the scale, in this case, in determining the absence of fibrosis or in confirming cirrhosis. In our study, 76% of patients had intermediate-stage fibrosis (between F1 and F3), and this could explain the discordant results between the non-invasive methods.

One limitation of our study is the use of liver biopsy as the gold standard. This limitation is evident in the 17 patients whose fibrosis score improved from significant to mild between the first and second biopsies. The tissue collected in a biopsy specimen represents 1/50 000 of the liver parenchyma. Although chronic hepatitis C is a diffuse disease, different areas of the liver may not be equally affected; hence, sampling errors can occur [40]. Another relevant fact is that most patients whose fibrosis score improved in our study had undergone antiviral treatment but did not achieve a sustained virological response [41], although these results did not reach statistical significance because of the small number of patients.

Another limitation of our study is that we did not use transient elastography to define liver fibrosis [43]. Using this ultrasound technique might have improved the performance of the NIHCED; however, this technique was unavailable at our center during the study period.

Nevertheless, the expense and lack of widespread availability of transient elastography at present could support arguments against including this technique in the score, as one of the main advantages of noninvasive methods is that they can be used to help physicians manage and follow-up patients with low risk of developing cirrhosis in any clinical setting.

Finally, the introduction of direct antiviral agents will markedly increase the rate of sustained virological response in patients with chronic hepatitis C. In this scenario, determining the stage of fibrosis could become obsolete because this factor will have much less impact on treatment decisions. However, for the time being, direct antiviral agents are very expensive; hence, in many countries it will probably be necessary to continue to select patients for treatment on the basis of their liver-related prognosis, which is mainly related to the degree of liver fibrosis. Thus, the evaluation of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients remains important [20].

In conclusion, the indirect noninvasive methods APRI, Forns, and NIHCEd could help detect patients with chronic hepatitis C at risk for progression to cirrhosis.

Acknowledgements

This study was funded by Societat Catalana de Digestologia, CIBERhed, Instituto de Salud Carlos III, and Parc Tauli Sabadell. Hospital Universitari.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

References

- 1 El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2012; 142:1264–1273.
- 2 Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR Recomm Rep* 1998; 47:1–39.
- 3 Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999; 341:556–562.
- 4 Thomas DL, Strathdee SA, Vlahov D. Long-term prognosis of hepatitis C virus infection. *JAMA* 2000; 284:2592.
- 5 Cadranel 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 (AFEF). *Hepatology* 2000; 32:477–481.
- 6 Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:2614–2618.
- 7 Rousset MC, Michalak S, Duprè F, Crouè A, Bedossa P, Saint-André JP, Calès P. Hepatitis Network 49. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology* 2005; 41:257–264.
- 8 Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996; 24:289–293.
- 9 Crespo G, Fernandez-Varo G, Marino Z, Casals G, Miquel R, Martinez SM, et al. ARFI, FibroScan®, ELF, and their combinations in the assessment of liver fibrosis: a prospective study. *J Hepatol* 2012; 57:281–287.
- 10 Martinez SM, Crespo G, Navasa M, Forns X. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Hepatology* 2011; 53:325–335.
- 11 Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Deydier R, Renou C, Botta-Fridlund D, et al. Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. *Comp Hepatol* 2005; 4:6.
- 12 Imbert-Bismut F, Ratziu 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; 357:1069–1075.
- 13 Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38:518–526.
- 14 Calès P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousset MC, Konaté A, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology* 2005; 42:1373–1381.
- 15 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; 51:1867–1873.
- 16 Vallet-Pichard A, Mallet V, Pol S. FIB-4: a simple, inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV-infected patients. *Hepatology* 2006; 44:769–770.
- 17 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 (4 Pt 1):986–992.
- 18 Bejarano G, Vergara M, Dalmau B, Puig J, Bella MR, Suárez D, Calvet X. Prospective evaluation of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C infection using the Sabadell NIHCEd (Non-Invasive Hepatitis-C-Related Cirrhosis Early Detection) index. *Rev Esp Enferm Dig* 2009; 101:325–335.
- 19 Obrador BD, Prades MG, Gómez MV, Domingo JP, Cueto RB, Rué M, et al. A predictive index for the diagnosis of cirrhosis in hepatitis C based on clinical, laboratory, and ultrasound findings. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18:57–62.
- 20 Boursier J, Brochard C, Bertrais S, Michalak S, Gallois Y, Fouchard-Hubert I, et al. Combination of blood tests for significant fibrosis and cirrhosis improves the assessment of liver-prognosis in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 40:178–188.
- 21 Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol* 2008; 48:835–847.
- 22 Lucidarme D, Foucher J, Le Bail B, Vergniol J, Castera L, Duburque C, et al. Factors of accuracy of transient elastography (Fibroscan) for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2009; 49:1083–1089.
- 23 Carrion JA. Utility of Fibroscan® in the evaluation of liver fibrosis. *Gastroenterol Hepatol* 2009; 32:415–423.
- 24 Parkes J, Roderick P, Harris S, Day C, Mutimer D, Collier J, et al. Enhanced liver fibrosis test can predict clinical outcomes in patients with chronic liver disease. *Gut* 2010; 59:1245–1251.
- 25 Nunes D, Fleming C, Offner G, Craven D, Fix O, Heeren T, et al. Noninvasive markers of liver fibrosis are highly predictive of liver-related death in a cohort of HCV-infected individuals with and without HIV infection. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:1346–1353.
- 26 Yu ML, Lin SM, Lee CM, Dai CY, Chang WY, Chen SC, et al. A simple noninvasive index for predicting long-term outcome of chronic hepatitis C after interferon-based therapy. *Hepatology* 2006; 44:1086–1097.
- 27 De Ledinghen V, Vergniol J, Barthe C, Foucher J, Chermak F, Le Bail B, et al. Non-invasive tests for fibrosis and liver stiffness predict 5-year survival of patients chronically infected with hepatitis B virus. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37:979–988.
- 28 Castera L, Bedossa P. How to assess liver fibrosis in chronic hepatitis C: serum markers or transient elastography vs. liver biopsy? *Liver Int* 2011; 31 (Suppl 1):13–17.
- 29 Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998; 352:1426–1432.
- 30 Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011; 54:1433–1444.
- 31 European Association for Study of Liver. EASL clinical practice guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2011; 55:245–264.
- 32 Pawlotsky JK, Aghemo A, Dusheiko G, Forns X, Puoti M, Sarrazin C. EASL recommendations on treatment of hepatitis C. *J Hepatol* 2014; 60:373–395.

- 33 Datz C, Cramp M, Haas T, Dietze O, Nitschko H, Froesner G, *et al.* The natural course of hepatitis C virus infection 18 years after an epidemic outbreak of non-A, non-B hepatitis in a plasmapheresis centre. *Gut* 1999; 44:563–567.
- 34 Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 2014; 61:S58–S68.
- 35 Bourliere M, Penaranda G, Renou C, Botta-Fridlund D, Tran A, Portal I, *et al.* Validation and comparison of indexes for fibrosis and cirrhosis prediction in chronic hepatitis C patients: proposal for a pragmatic approach classification without liver biopsies. *J Viral Hepat* 2006; 13:659–670.
- 36 Boursier J, de Ledinghen V, Zarski JP, Fouchard-Hubert I, Gallois Y, Oberti F, Calès P. multicentric groups from SNIFF 32, VINDIAG 7, and ANRS/HC/EP23 FIBROSTAR studies. Comparison of eight diagnostic algorithms for liver fibrosis in hepatitis C: new algorithms are more precise and entirely noninvasive. *Hepatology* 2012; 55: 58–67.
- 37 Castéra L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, *et al.* Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology* 2010; 51:828–835.
- 38 Leroy V, Hilleret MN, Sturm N, Trocme C, Renversez JC, Faure P, *et al.* Prospective comparison of six non-invasive scores for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007; 46:775–782.
- 39 Sebastiani G, Vario A, Guido M, Noventa F, Plebani M, Pistis R, *et al.* Stepwise combination algorithms of non-invasive markers to diagnose significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006; 44:686–693.
- 40 Sebastiani G, Halfon P, Castera L, Pol S, Thomas DL, Mangia A, *et al.* SAFE biopsy: a validated method for large-scale staging of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2009; 49:1821–1827.
- 41 Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38:1449–1457.
- 42 Martinez SM, Foucher J, Combis JM, Métivier S, Brunetto M, Capron D, *et al.* Longitudinal liver stiffness assessment in patients with chronic hepatitis C undergoing antiviral therapy. *PLoS One* 2012; 7: e47715.
- 43 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; 29:1705–1713.