



REVISTA DE
GASTROENTEROLOGÍA
DE MÉXICO

www.elsevier.es/rgmx



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Biomarcadores para fibrosis hepática, avances, ventajas y desventajas



A. Cequera* y M.C. García de León Méndez

Unidad de Investigación en Medicina Experimental, Facultad de Medicina,
UNAM/Hospital General de México, México D.F

Recibido el 15 de mayo de 2013; aceptado el 21 de mayo de 2014
Disponible en Internet el 20 de junio de 2014

PALABRAS CLAVE

Biomarcadores para fibrosis;
Cirrosis hepática;
Biopsia hepática;
Fibrotest;
FibroScan;
Elastografía

Resumen La cirrosis hepática en México es una de las principales causas de muerte en sujetos entre los 25 y los 50 años de edad. Una de las principales razones del fracaso terapéutico es el desconocimiento de los mecanismos moleculares que producen el trastorno hepático y lo hacen irreversible. Entre sus características anatómicas prevalece un depósito excesivo de tejido fibroso que adopta diferentes formas, dependiendo de la etiología y etapa de la enfermedad.

La biopsia hepática, considerada tradicionalmente como la referencia estándar para estandarizar la fibrosis, ha sido muy cuestionada en la última década, por lo que se ha propuesto el desarrollo de tecnologías no invasivas basadas en enfoques distintos pero complementarios: uno biológico que considera los niveles séricos de los productos procedentes de la fibrosis y otro físico que evalúa la cicatrización del órgano por métodos tales como, el ultrasonido, la resonancia magnética y la elastografía, algunos de ellos, estudiados y validados inicialmente en pacientes con hepatitis C.

Existe la necesidad de establecer marcadores hepatoespecíficos no invasivos para el diagnóstico de fibrosis hepática, ya que actualmente no se cuenta con un parámetro o panel que cumpla con los criterios de eficacia y confiabilidad, requeridos para su uso diagnóstico.

En este trabajo se describen los biomarcadores empleados actualmente para el estudio de la fibrosis hepática en humanos, incluyendo sus ventajas y desventajas y la implementación de tecnologías de nueva generación, y la evaluación de las posibilidades de su empleo para el diagnóstico.

© 2014 Asociación Mexicana de Gastroenterología. Publicado por Masson Doyma México S.A. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia: Unidad de Investigación en Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM/Hospital General de México, Dr. Balmis n.º 148, Col. Doctores, C.P. 6729, Delegación Cuauhtémoc, D.F. Teléfono y celular: (+255)56232664;(+255) 5513717126; fax: (+252)57610249.

Correo electrónico: alainscequera@yahoo.com.mx (A. Cequera).

KEYWORDS

Fibrosis biomarkers;
Liver cirrhosis;
Liver biopsy;
Fibrotest;
FibroScan;
Elastography

Biomarkers for liver fibrosis: advances, advantages and disadvantages

Abstract Liver cirrhosis in Mexico is one of the most important causes of death in persons between the ages of 25 and 50 years. One of the reasons for therapeutic failure is the lack of knowledge about the molecular mechanisms that cause liver disorder and make it irreversible. One of its prevalent anatomical characteristics is an excessive deposition of fibrous tissue that takes different forms depending on etiology and disease stage.

Liver biopsy, traditionally regarded as the gold standard of fibrosis staging, has been brought into question over the past decade, resulting in the proposal for developing non-invasive technologies based on different, but complementary, approaches: a biological one that takes the serum levels of products arising from the fibrosis into account, and a more physical one that evaluates scarring of the liver by methods such as ultrasound and magnetic resonance elastography; some of the methods were originally studied and validated in patients with hepatitis C.

There is great interest in determining non-invasive markers for the diagnosis of liver fibrosis, since at present there is no panel or parameter efficient and reliable enough for diagnostic use.

In this paper, we describe the biomarkers that are currently being used for studying liver fibrosis in humans, their advantages and disadvantages, as well as the implementation of new-generation technologies and the evaluation of their possible use in the diagnosis of fibrosis.

© 2014 Asociación Mexicana de Gastroenterología. Published by Masson Doyma México S.A. All rights reserved.

El proceso de fibrosis hepática

El hígado desempeña un papel único como centro metabólico del cuerpo. Su peso promedio en individuos adultos es aproximadamente de $1,400 \pm 270$ g, sin diferencias significativas relacionadas con el género. Se compone de 5 tipos distintos de células que ocupan cerca del 80% de su volumen. El 20% restante corresponde a los espacios extracelulares y componentes de la matriz extracelular¹.

La fibrosis es una respuesta común del hígado a la lesión crónica producida por una variedad de agresiones, como enfermedades metabólicas, infecciones virales, abuso en la ingesta de alcohol, drogas y ataque autoinmune a los hepatocitos, conductos biliares, o anomalías congénitas.

En el espacio de Disse del hígado normal, en contacto directo con la lámina basal (material de baja densidad semejante a «membrana basal» que está formada por colágena tipo IV, en asociación con laminina y entactina a lo largo de la pared sinusoidal)², se puede observar un conjunto organizado de proteínas conocido como matriz extracelular (MEC) que constituye alrededor del 0.5% del peso total del hígado. Es el sostén para las células parenquimatosas que, además de reforzar la arquitectura del órgano, hace posible el intercambio de moléculas entre los hepatocitos, en un flujo semicontinuo debido a su composición no fibrilar, lo que resulta fundamental para el mantenimiento de las funciones diferenciadas de todas las células residentes en el hígado.

En el hígado fibrótico, los componentes de la MEC son similares a los presentes en el hígado normal (colágena y otros) solo que incrementados cuantitativamente, por el desarrollo de la fibrosis.

La estructura normal de la matriz presente en el espacio subendotelial se transforma en una matriz de tipo intersticial con alto contenido de colágena fibrilar, producto de

la activación paracrina de las células hepáticas estelares, inducida por las células de Kupffer, con la consecuente sobreexpresión y redistribución de las cantidades relativas de las proteínas de MEC, depositadas inicialmente, en el espacio porta y/o vena central, conduciendo al desarrollo de conexiones fibrosas entre las estructuras vasculares, seguidas de la pérdida tanto de la naturaleza fenestrada del endotelio sinusoidal (capilarización), como de las microvelosidades de los hepatocitos, incidiendo a su vez no solo en la expansión de la MEC, sino también en la interrupción de la vascularización normal del lóbulo hepático, lo que contribuye al deterioro de la función del órgano³.

Estos cambios ilustran el papel principal de la MEC en el hígado, no solo como armazón para su arquitectura, sino también como una red continua entre las células que permite, vía sus propios receptores, el intercambio continuo de señales entre ellas².

Por sí misma la fibrosis es un evento biológico importante, producto del desequilibrio entre la síntesis y degradación de las moléculas de la MEC, que al asociarse con otros procesos del órgano, promueve a largo plazo el desarrollo de la cirrosis que, en ausencia de un tratamiento oportuno y adecuado, suele llevar a un desenlace fatal.

La cirrosis representa la segunda causa de muerte a nivel nacional de individuos en edad productiva, lo que tiene un impacto importante tanto en la salud pública como en la economía, implicando costos significativos en hospitalización, tratamiento y ausencia laboral⁴.

La biopsia hepática

La biopsia hepática ha sido considerada durante los últimos 50 años como el método estándar de oro para clasificar a la fibrosis ya que ha permitido a los médicos obtener

información diagnóstica, no solo acerca de la fibrosis sino también de otros procesos de daño, tales como la necrosis, inflamación, esteatosis y depósitos de hierro o cobre entre otros⁵.

En la actualidad los sistemas de puntuación más utilizados para evaluar la biopsia hepática son, Knodell, Ishak y Metavir.

Como los informes convencionales de las observaciones de las biopsias no proporcionaban criterios claros de valoración, convincentes y concluyentes para su análisis estadístico, Knodell y sus colegas establecieron la construcción un «índice de actividad histológica» (HAI)⁵.

El método Knodell comenzó a utilizarse en 1981, a partir de la publicación de un documento donde se informaba de un procedimiento histológico desarrollado para la evaluación cuantitativa de las alteraciones producidas por la hepatitis crónica, en el cual se consideran la inflamación portal, la necrosis, la actividad periportal, la necrosis lobulillar y la fibrosis. Se compone de 4 números asignados en forma individual para conformar una sola puntuación. El primer componente (necrosis periportal y/o en puente) evaluado en una escala de 0-10. Los 2 componentes siguientes (degeneración intralobular e inflamación portal) se puntúan de 0-4. La combinación de estos 3 marcadores indica la cantidad de inflamación en el hígado. El cuarto componente indica la cantidad de cicatrices en el hígado y se puntúa como: F0 (sin cicatrices), F1 (fibrosis portal sin septos), F3 (numerosos septos sin cirrosis) y F4 (cirrosis o cicatrices avanzadas en el hígado)⁵.

El sistema de puntuación Metavir, ha sido especialmente diseñado para evaluar el estado del hígado de personas infectadas con el virus de la hepatitis C (VHC). El índice incluye la suma de la puntuación asignada al grado de actividad inflamatoria observada en la muestra (0-4; siendo, 0 sin actividad y 3 o 4 la actividad considerada grave), además de la proporcionada por la estadificación, que representa la cantidad de fibrosis: 0 (sin cicatrices), 1 (cicatrices mínimas), 2 (la cicatrización ha ocurrido y se extiende fuera de las áreas que contienen vasos sanguíneos), 3 (puentes de fibrosis extendiéndose y conectándose con otras áreas que contienen fibrosis) y 4 (cirrosis)⁶.

La asociación americana para el estudio de las enfermedades hepáticas (AASLD) recomienda que, «para que una biopsia pueda ser considerada como apropiada, esta debe ser tomada con aguja calibre 16, medir de 2-3 cm de longitud y contener por lo menos 11 tractos portales completos que permitan una adecuada clasificación histológica del parénquima». Sin embargo, pocas muestras percutáneas en la práctica clínica cumplen estos criterios, como lo muestra el trabajo de Regev et al., publicado en el 2002, en el cual apoyándose en el análisis realizado en muestras de pacientes con hepatitis C crónica, tomadas de ambos lóbulos hepáticos (derecho e izquierdo), determinaron que la biopsia tenía una alta tasa de error de muestreo interindividual, demostrando diferencias en gradación histológica y estadificación (33.1%) en una gran proporción de ellos, sin embargo, con discrepancias poco frecuentes en más de una etapa o grado⁷. Esta variabilidad se incrementa hasta en un 60.2%, en muestras de biopsias pequeñas (1.5 cm) y para las de 1 cm en un 86.6% ($p < 0.001$)⁸, con una diferencia media de 2.4+2.1 para la actividad necroinflamatoria y de 0.6+0.9 para la fibrosis con una $r=0.53$ ($p < 0.01$) y

$r=0.62$ ($p < 0.0001$), respectivamente⁹. Otros estudios han demostrado discordancia del 30% en la estadificación histopatológica; durante el análisis de biopsias tomadas de los lóbulos hepáticos derecho e izquierdo, de pacientes con enfermedad de hígado graso no alcohólico, la obtención de una muestra de tamaño adecuado (> 2 cm de longitud, con > 10 tractos portales)¹⁰ reduce en gran medida el sesgo, considerando que se obtiene alrededor de 1/50,000 de la masa hepática¹¹. Si bien es claro que el artículo de Regev et al.⁷ no es de las publicaciones más sobresalientes, sí es una de las más citadas en revisiones recientes relacionadas con biomarcadores, las cuales señalan la misma desventaja de la biopsia, donde además los autores coinciden en el problema de la variabilidad en el muestreo, característica que debe ser tomada en cuenta cuando se toman decisiones sobre el pronóstico y el tratamiento de los pacientes.

Otros inconvenientes, como su carácter invasivo, la poca calidad de la muestra y tamaño del tejido (coeficiente de variación del 45-35%), la hacen irreproducible en función de la longitud¹¹. Por otra parte, es una evaluación histológica que depende estrictamente de la experiencia del patólogo (error del observador).

Existen riesgos asociados a la obtención de la biopsia hepática, que van desde el dolor (84%) e hipotensión como los más frecuentes, hasta el sangrado peritoneal (0.5%) y el daño al sistema biliar como las complicaciones más graves, aunque con un nivel de morbimortalidad significativamente bajo (0.09-0.12%)¹²⁻¹⁵, sustentando así las consideraciones éticas que implican su obtención evitando que sean tomadas biopsias múltiples del mismo paciente. Finalmente, los resultados generados tienden a ser frecuentemente representativos cuando se trata de una enfermedad relativamente avanzada^{16,17}. Las consideraciones a favor y en contra se resumen en la [tabla 1](#).

Biomarcadores de fibrosis hepática

En los últimos años, el interés por identificar y describir la fibrosis hepática mediante el uso de marcadores no

Tabla 1 Ventajas y desventajas de la biopsia hepática

Ventajas	Desventajas
Estándar de oro para el diagnóstico	Prueba altamente invasiva
Valor diagnóstico confirmatorio	Las complicaciones potenciales incluyen la mortalidad
Sugerencia etiológica	Error de muestreo significativo
Diagnóstico diferencial	Alto costo
Evaluación del grado y estadio	Variación interobservador
Decisión terapéutica (elegibilidad)	
Evaluación del tratamiento (eficacia)	
Comparación en el seguimiento de los pacientes no tratados y tratados	

invasivos ha ido en aumento¹⁸. La fibrosis puede ser determinada en 2 formas (no invasivas), una de ellas se basa en una aproximación biológica (cuantificación de marcadores en suero) y la segunda en una aproximación física (midiendo la rigidez del hígado); finalmente ambas resultan complementarias.

La dureza es una propiedad característica del parénquima hepático, mientras que los marcadores en suero podrían indicar, aunque no estrictamente, una asociación con el estadio de la fibrosis¹⁹.

Los marcadores de fibrosis hepática ofrecen una alternativa atractiva y rentable tanto para el paciente como para el médico. Además de no ser invasivos, prácticamente no provocan complicaciones, los errores de muestreo son pocos o nulos y tienen la ventaja de que las mediciones pueden llevarse a cabo repetidamente, permitiendo por lo tanto un control dinámico de la enfermedad; en otras palabras, al poder realizar las mediciones repetidamente, sin afectar el estado del hígado (lo que no siempre ocurre con la biopsia), permite la supervisión de la progresión de la enfermedad o su regresión, como parte del seguimiento ya sea de la historia natural del padecimiento hepático o como resultado de los regímenes de tratamiento²⁰.

El valor diagnóstico de los marcadores para fibrosis hepática se ha explorado en numerosos estudios.

De acuerdo a las necesidades clínicas y de investigación, el marcador ideal debe reunir las siguientes características:

- Alta sensibilidad y especificidad que permitan identificar diferentes etapas de fibrosis.
- Disponibilidad, seguridad, economía y reproducibilidad
- Capacidad para diferenciar la fibrosis de otros trastornos inflamatorios hepáticos, es decir, evitar falsos positivos.

Aunque no existe un marcador ideal para la fibrosis, se han identificado varias moléculas o algoritmos como indicadores útiles, cuando se manejan combinados²¹. Algunos de los métodos no invasivos nuevos han sido evaluados mediante el análisis del área bajo la curva (AUROC), tomando la biopsia como referencia. Sin embargo, son pocos los marcadores que exhiben una AUROC > 90, que les permita ser tomados como el marcador no invasivo de elección.

Los biomarcadores en suero han sido valorados principalmente por su capacidad para determinar el estadio de la fibrosis. Se han propuesto 2 tipos de ellos: los directos, que reflejan el depósito o la eliminación de la matriz extracelular en el hígado; y los indirectos, que incluyen moléculas liberadas a la sangre inducidas por la inflamación, sintetizadas, reguladas o excretadas por el órgano, como producto de los procesos comúnmente alterados a consecuencia del deterioro de la función hepática²².

Hasta la fecha, los marcadores directos engloban a los diferentes fragmentos de los componentes de la MEC producidos por las células hepáticas estelares y otras células del hígado, durante el proceso de remodelación de la matriz hepática²³, entre ellos están incluidas glucoproteínas como el ácido hialurónico (HA), laminina e YLK-40; colágenas (procolágena III, la colágena tipo IV), y metaloproteasas de matriz y sus inhibidores (TIMP) (tabla 2).

Los llamados marcadores indirectos son determinados en ensayos rutinarios de laboratorio; entre ellos se

Tabla 2 Biomarcadores para fibrosis hepática

<i>Marcadores Indirectos</i>	
Pruebas simples de función hepática	Aminotransaminasas (ALT, AST), γ -glutamyltranspeptidasa (GGT), bilirrubina, albúmina
Variables hematológicas	Recuento de plaquetas y tiempos de protrombina
Otras	Glucosa, insulina, apolipoproteína, colesterol, haptoglobina
<i>Marcadores directos</i>	
Colágena, moléculas y enzimas de MEC	N-terminal procolágena, ácido hialurónico, colágena tipo IV, laminina, fibronectina, YKL-40, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, MMP-9
Citocinas	TGF- β , TNF- α , angiotensina-II
Marcadores de proteómica	Proteína de unión a galectina-3 (G3BP), proteína 4 asociada a microfibrillas (MFAP4), tropomiosina
Marcadores genéticos	SNP de AZIN1, TLR4, TRPM5, AQP2, STXBP5L

AQP2: acuaporina 2; AZIN1: ornithine decarboxylase antizyme inhibitor; STXBP5L: syntaxin binding protein 5-like; TLR4: receptor tipo Toll 4; TRPM5: long transient receptor potential channel 5.

Modificada de Adams et al.³⁶.

encuentran, los tiempos de protrombina, recuento de plaquetas y determinación de transaminasas (alanina aminotransferasa [ALT] y aspartato aminotransferasa [AST]) los cuales indican alteración hepática.

A continuación, se describen los marcadores más sobresalientes o novedosos.

Aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa

Son enzimas hepáticas excretadas al torrente sanguíneo por los hepatocitos dañados. El valor predictivo de la relación AST/ALT se ha validado en la enfermedad hepática no alcohólica, hepatitis viral crónica, colangitis esclerosante primaria y cirrosis biliar primaria²⁴.

En algunas formas de hepatitis aguda y crónica, y/o esteatosis esta relación es ≤ 1 , mientras que en la hepatitis alcohólica, una relación AST/ALT es a menudo > 2 ; mientras que estas proporciones son solo sugerentes para ciertas etiologías hepáticas, existe una superposición entre los grupos que dependen de la relación AST/ALT exclusivamente, por ejemplo, al hacer un diagnóstico en pacientes con hepatitis C con abuso del alcohol. Además la ALT y la AST también pueden elevarse aunque en menor medida por problemas musculares, renales y cardíacos^{25,26}. Aunque esta relación no sea significativa para detectar fibrosis, en pacientes cirróticos infectados con el VHC se ha reportado que una relación AST/ALT ≥ 1 con valores de sensibilidad y especificidad del 81.3% y del 55.3% respectivamente, durante un año de seguimiento posterior al diagnóstico de cirrosis, en combinación

con el recuento de plaquetas, pueden alcanzar valores predictivos positivos hasta del 100%^{23,27}.

El recuento de plaquetas

La trombocitopenia es un marcador valioso para enfermedades hepáticas avanzadas, puede estar relacionada con mecanismos tales como hiperesplenismo, mielosupresión por VHC, disminución de la producción de trombopoyetina y el desarrollo de procesos autoinmunes, sin embargo, la evaluación conjunta de la relación AST/ALT y el recuento de plaquetas (PLT) tiene un valor diagnóstico alto para la cirrosis (70-90%)²⁷.

Tiempo de protrombina

El tiempo de protrombina (TP) es un índice que refleja la capacidad de síntesis del hígado, y por lo tanto es uno de los indicadores iniciales de cirrosis. En un estudio retrospectivo realizado con 252 pacientes infectados con VHC, el TP, el PLT y la relación AST/ALT combinados resultaron predictivos de cirrosis²⁷. En otro estudio realizado con 518 pacientes con enfermedad hepática crónica, se correlacionaron los TP con la puntuación de fibrosis histológica ($r = -0.70$; $p < 0.0001$), encontrando que el índice de protrombina $< 80\%$ y $< 70\%$ es diagnóstico de fibrosis grave o cirrosis, respectivamente, con una probabilidad del 95%²⁸. Otro grupo reportó que el TP correlacionaba con la presencia y el tamaño de las varices esofágicas²⁹. El TP es componente de diferentes índices.

Péptido carboxilo-terminal de la procolágena tipo I y péptido amino-terminal de la procolágena tipo III

En el hígado humano sano las colágenas tipo I y III (formadoras de fibrillas) son las más abundantes. En su forma madura, la colágena está integrada a la MEC. Durante la fibrogénesis, los niveles de colágena tipo I pueden aumentar hasta 8 veces; además, la relación I/III también cambia, de 1:1 en el hígado sano, a 1:2 en el cirrótico¹⁶.

El péptido amino-terminal de la procolágena tipo III (PIIINP) es un componente importante del tejido conectivo; su concentración relativa en la membrana basal es mayor durante la fibrogénesis hepática seguida por un aumento de sus niveles en suero; su determinación para uso clínico es limitado debido a su baja sensibilidad y especificidad (78% y 81% respectivamente). En la hepatitis aguda, los niveles de PIIINP correlacionan con los niveles de aminotransferasas, reflejando el grado de fibrosis, pero desafortunadamente no es específico ya que también se eleva en la acromegalia, fibrosis pulmonar, pancreatitis crónica y enfermedades reumáticas^{16,19}.

Los niveles séricos de péptido carboxilo-terminal de la procolágena tipo I (PICP) en pacientes con infección crónica leve por el VHC no se diferencian de aquellos detectados en individuos sanos, elevándose solamente en un 50% de los pacientes con fibrosis avanzada o moderada, incluyendo aquellos con cirrosis hepática; por consiguiente, su determinación sérica no permite la detección potencial de todos los casos de fibrosis.

Debido a que no existe una correlación entre los niveles de PICP y PIIINP en suero, basado en su determinación sérica,

el uso combinado de ambas moléculas no es confiable para establecer el grado de fibrosis³⁰.

Colágena tipo IV

La colágena tipo IV es un componente esencial de la MEC hepática. A diferencia de las colágenas tipo I y III que son procesadas por proteólisis, esta molécula se deposita intacta en la matriz y su presencia en el suero refleja directamente su degradación. Por lo tanto, los ensayos para detectar los fragmentos séricos de colágena tipo IV (NC1 y PIVNP), se utilizan con más frecuencia en la práctica. Estos tienen una correlación positiva con el grado de fibrosis hepática en pacientes con hepatitis viral crónica y enfermedad hepática alcohólica, funcionando como indicadores sensibles a la presencia de cirrosis en la hemocromatosis. En la hepatitis C, el punto de corte para el diagnóstico en la etapa F2 se estableció en 110 ng/ml y para predecir la etapa F3 en 130 ng/ml^{23,31}. La combinación de este marcador y PIIINP da resultados de sensibilidad y especificidad del 88%¹⁹.

Factor de crecimiento transformante $\beta 1$

Es una citocina pleiotrópica implicada en la regulación del crecimiento tisular, diferenciación, producción de MEC y en la respuesta inmune. Se han identificado 3 isoformas de esta citocina ($\beta 1$, $\beta 2$ y $\beta 3$), pero solo la $\beta 1$ ha sido vinculada a la fibrogénesis hepática. El factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) es conocido comúnmente como un componente central de respuesta fibrogénica en las heridas y un sobre-regulador de diferentes enfermedades. La correlación entre los niveles de TGF- $\beta 1$ y la progresión de la fibrosis es aceptada considerablemente^{21,32}.

El ácido hialurónico

Es un glucosaminoglicano componente de la MEC sintetizado por las células hepáticas estelares. En circunstancias normales las SEC hepáticas son las estructuras que intervienen directamente en su captación y degradación. Los niveles elevados de HA pueden deberse a su eliminación disminuida o al aumento de su producción; estos han sido detectados en el suero de pacientes con enfermedades hepáticas de etiologías diferentes y en particular en aquellos con cirrosis²³. En un estudio realizado en pacientes con enfermedad de hígado graso no alcohólico, el HA fue seleccionado como el mejor marcador para fibrosis, con un AUROC de 0.97 y con una especificidad y sensibilidad del 88-95% y 86-100% respectivamente, para este grupo^{19,33}. Sin embargo, se ha reportado que su valor predictivo positivo es menor (61%) que el valor predictivo negativo (98-100%), concluyéndose que la utilidad principal de este marcador reside en que es posible descartar fibrosis avanzada y cirrosis dependiendo de su nivel sérico¹⁶.

Proteína 4 asociada a microfibrillas

Es una proteína de unión a colágena que contiene en su extremo C-terminal un dominio tipo fibrinógeno y un motivo de unión a integrina situado en el extremo N-terminal de

Tabla 3 Índices serológicos de multicomponentes

Estudio	Prueba serológica	Sensibilidad (%) ^a	Especificidad (%) ^a
APRI	AST/plaquetas	89	75
PGA	Protrombina, GGT, apolipoproteína A1	91	81
PGAA	Tiempos de protrombina, GGT, apolipoproteína A1, α 2-macroglobulina	66	72
Forns	Edad, plaquetas, GGT, colesterol	94	51
FibroTest	Edad, genero, GGT, bilirrubinas, α 2-macroglobulina, apolipoproteína A1, haptoglobina	75	85
HepaScore	Edad, genero, bilirrubina, GGT, ácido hialurónico, γ 2-macroglobulina	71	84
FIB-4	Plaquetas, ALT, AST, edad	70	74
FibroIndex	Plaquetas, AST, GGT	78	74
FibroMeter	Plaquetas, AST, edad, γ 2-macroglobulina, tiempos de protrombina, ácido hialurónico, urea	81	84

ALT: alanina aminotransferasa; AST; Aspartato aminotransferasa; GGT: γ -glutamilttransferasa. Modificada de Gressner et al.²² y Adams et al.³⁶.

^a Los valores corresponden a comparaciones obtenidas de pacientes F4.

la molécula. Participa en la respuesta inmune innata y permite el libre intercambio gaseoso en los pulmones a través de su asociación a la región colagénica de proteínas surfactantes (SP-A y SP-D). La región N-terminal de la proteína incluye un residuo cisteína y una secuencia Arg-Gly-Asp (RGD), que es un motivo de adhesión celular para varios miembros de la familia de las integrinas³⁴. En un estudio reciente la proteína 4 asociada a microfibrillas mostró niveles séricos de diagnóstico de alta precisión para la predicción de cirrosis en un grupo control (individuos sanos) comparado con un grupo de pacientes con VHC (AUROC = 0.97, $p < 0.0001$) con una sensibilidad del 91.6% y una especificidad del 95.6%³⁵, así como en el estadio F0 comparado con el F4 (AUROC = 0.84, $p < 0.0001$), y en etapas F0-F3 versus F4 (AUROC = 0.76, $p < 0.0001$)^{21,36}. Esta proteína además figura como el marcador ideal en suero (datos por publicar) entre las proteínas hepatoespecíficas, obtenidas de nuestro modelo experimental de fibrosis realizado en ratas.

Marcadores indirectos (multicomponentes)

Los marcadores directos e indirectos se pueden usar solos o combinados para producir puntuaciones compuestas. El cálculo de tales índices puede ser relativamente simple o estar basado en fórmulas complicadas (por ejemplo, FibroTest/FibroSure)²¹; el FibroTest (FT, patentado por Biopredictive, París, Francia) fue el primer multicomponente que combinó los datos resultantes de diversas pruebas^{23,37}. También han sido propuestos otros índices, 4 de ellos están patentados y son comerciales y algunos otros se encuentran en estudio; estos índices se describen en la [tabla 3](#).

Índice PGA

Combina la medición del índice de TP, niveles de γ -glutamilttransferasa y apolipoproteína A1. Posteriormente se adicionó la determinación de α 2-macroglobulina, lo que dio lugar a la PGAA mejorando su rendimiento. El índice PGA está relacionado, en las enfermedades crónicas hepáticas, tanto con la inflamación como con la fibrosis ($p < 0.01$, $p < 0.05$, respectivamente). Sin embargo, su precisión en

general es relativamente baja para detectar cirrosis (66-72%)^{19,38-40}.

APRI

Es el índice que resulta de la relación de AST-plaquetas; este se calcula como sigue:

$$\frac{(\text{AST}/\text{límite superior del rango normal}^*) \times 100}{\text{PLT} (10^9/\text{L})}$$

* depende del valor de referencia de cada laboratorio.

APRI ha sido validado en grupos de pacientes con VHC y como un marcador sustituto de fibrosis hepática significativa en pacientes coinfectados con VIH/VHC. Recientemente se ha empleado para determinar fibrosis avanzada en pacientes con VIH⁴¹; sin embargo, el resultado de un metaanálisis sugirió que el APRI puede identificar la relación hepatitis C-fibrosis solo con un grado de precisión moderada (63.74%, $p < 0.01$) y con una sensibilidad y especificidad del 89% y del 75%, respectivamente^{42,43}.

El índice de Forn

Se basa en 4 variables clínicas de rutina: edad, recuento de plaquetas, niveles de colesterol y γ -glutamilttransferasa. Con este método se puede diferenciar a los pacientes con fibrosis leve (F0-F1) de aquellos con fibrosis avanzada (F2-F4), pero es menos preciso para distinguir a los pacientes con grados entre F2 a F4. El índice de Forn ha sido validado en otras cohortes como una herramienta de predicción de la respuesta a la terapia anti-VHC con valores de sensibilidad y especificidad del 94% y del 51% respectivamente y con un AUROC que varía entre 0.81-0.86^{36,44}.

HepaScore

Este índice combina la edad y el género con las concentraciones séricas de bilirrubina, γ -glutamilttransferasa, HA y γ 2-macroglobulina en una puntuación de 0 a 1. En 2 estudios independientes, uno con 512 pacientes con hepatitis C crónica y el otro con 117 pacientes con hepatitis C, ambos no tratados, el HepaScore mostró valores

predictivos favorables para la identificación de fibrosis significativa (AUROC = 0.81-0.85), fibrosis grave (AUROC = 0.82-0.96) y cirrosis (AUROC = 0.88-0.94). Los valores obtenidos oscilaban entre: un 92% de especificidad y un 67% de sensibilidad para la fibrosis significativa, entre un 81% y un 95% para la fibrosis grave, y del 84% y 71% para cirrosis. Es importante destacar que el HepaScore se puede automatizar utilizando un analizador único^{45,46}.

FibroTest y FibroSure

Son pruebas idénticas para la evaluación del grado de fibrosis y actividad necroinflamatoria, comercializadas con diferentes nombres en Europa y América. La puntuación del FT se obtiene mediante el acceso a una licencia de un sitio web y se calcula en función de la edad del paciente, sexo, concentración de haptoglobina sérica, α 2-macroglobulina, apolipoproteína A1, γ -glutamyltransferasa y bilirrubina⁴⁷. Con estos datos se genera la puntuación que se correlaciona con el grado de daño hepático. Debido a la variabilidad de los componentes del ensayo y el tipo de analizadores empleados, el FT solo puede realizarse en laboratorios validados. Con el fin de validar el FT frente a la biopsia, la prueba fue aplicada a 2,472 pacientes no tratados: 770 con hepatitis C crónica, 723 con hepatitis B, 761 con enfermedad de hígado graso no alcohólica y 218 con enfermedad hepática alcohólica, encontrándose un paralelismo significativo entre ellas con una correlación intraclase = 0.961 (IC 95%: 0.948 a 0.970) y 0.899 (IC 95%: 0.135 a 0.969) para la F4 y F0, respectivamente. Esta concordancia se mantuvo de acuerdo con la enfermedad y el género. Se observó progresión más rápida de la fibrosis en pacientes con enfermedad de hígado graso no alcohólica hacia F4 (biopsia/FT) para los hombres (1.44/1.62) y más lenta para las mujeres (0.09/0.02)⁴⁸. En un estudio prospectivo (2008-2010), 194 pacientes con VHB fueron sometidos a biopsia hepática aplicándoseles conjuntamente el FT y elastografía transitoria (TE) y se determinó que para predecir fibrosis significativa ($F \geq 2$), fibrosis grave ($F \geq 3$) y cirrosis (F4), los cálculos de las AUROC de FT fueron 0.903, 0.907 y 0.866; y de acuerdo con los puntos de corte, 123 pacientes (63.4%) fueron clasificados correctamente en concordancia con la fibrosis histológica. Las mejores AUROC se obtuvieron multiplicando FT (TE \times FT) cuyo resultado fue 0.941, 0.931 y 0.929 para $F \geq 2$, $F \geq 3$ y F4, respectivamente⁴⁹. La sensibilidad y la especificidad para este marcador fueron respectivamente del 75% y del 85% para predecir cirrosis.

FIBROMAX

Es un sistema que agrupa 3 diferentes pruebas que permite diagnosticar fibrosis: (FibroTest), esteatosis (EsteatoTest) y esteatohepatitis no alcohólica (NashTest). La asociación de estos 3 ensayos en una misma hoja de resultados proporciona a los médicos una estimación simultánea y completa de la lesión hepática asociada a la enfermedad de hígado graso no alcohólico, combinando 10 marcadores, edad, sexo, estatura y peso del paciente, α -2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, γ -glutamyltranspeptidasa, bilirrubina total, ALT, AST, colesterol total, triglicéridos y glucosa (en ayunas)⁵⁰. Existen muy pocos estudios que hayan validado estas pruebas en conjunto; un análisis realizado en el Cairo con 44 pacientes con VHC que correlacionó la

histopatología y el índice de masa corporal mediante el empleo de FibroMax y biopsia hepática demostró una asociación positiva significativa entre el índice de masa corporal y SteatoTest por FibroMax, con valores tanto de AUROC del 0.67 como de sensibilidad y de especificidad del 100% y del 99% respectivamente⁵¹.

FibroMeter

El FibroMeter (FM) es un ensayo multicomponente que resulta de la combinación de: la edad del paciente, recuento de plaquetas, índice de protrombina, AST, γ 2-macroglobulina, HA y nitrógeno ureico en sangre. El desempeño y la aplicabilidad del FM fueron validados en el diagnóstico de diferentes enfermedades crónicas hepáticas, incluyendo hepatitis viral crónica B y C, enfermedad hepática alcohólica y enfermedad de hígado graso no alcohólica. Una característica importante del FM es que describe la cantidad de fibrosis hepática, en valores porcentuales de tejido fibroso dentro del hígado, y otra muy significativa es que valida los resultados a través de un sistema que detecta valores erróneos. El FM tiene 2 objetivos de diagnóstico principales: la determinación del estadio de fibrosis correspondiente al índice histológico Metavir y la cantidad de fibrosis relacionada con las determinaciones morfométricas de la zona fibrótica²¹. La sensibilidad y especificidad para predecir cirrosis son del 81% y del 84%.

Marcadores de dureza hepática

Los médicos utilizan regularmente palpación manual para evaluar ciertas enfermedades. Este método se limita a las estructuras que son superficiales, grandes en tamaño y en general considerablemente más rígidas que el tejido circundante. Durante años han estado bajo investigación métodos diseñados para la visualización de las propiedades mecánicas de los tejidos los cuales poseen, a diferencia de la palpación, mayor sensibilidad y especificidad⁵².

Uno de los métodos empleados últimamente con mayor frecuencia para estimar la fibrosis hepática en pacientes con enfermedades crónicas es la medición de la rigidez del hígado por técnicas no invasivas. Sin embargo, existe una evidencia creciente de que la fibrosis no es el único determinante de la rigidez del órgano, de hecho la inflamación, la colestasis y la congestión también podrían interferir con las mediciones de rigidez⁵³.

En los métodos de visualización de la elasticidad hay 2 enfoques generales para la formación de la imagen: 1) creación de imágenes que reflejan las diferencias relativas en la rigidez del tejido (es decir, imágenes de tensión, como la TE) y 2) realizar reconstrucciones que se relacionan con la respuesta de desplazamiento a la tensión subyacente, propiedades de los materiales que permiten crear imágenes cuantitativas de la elasticidad (por ejemplo, la excitación de fuerzas de radiación acústica súbitas [ARFI])⁵⁴.

Elastografía transitoria

La fibrosis hepática puede ser representada también por el ultrasonido unidimensional (1D) mediante la TE, que mide la velocidad de propagación de la onda elástica de una frecuencia baja (-50 Hz) a través del hígado. Esta velocidad

llamada módulo elástico (expresada como $E = 3pv^2$, donde v es la velocidad de corte, p es la densidad del tejido) está directamente relacionada con la rigidez del tejido.

Cuanto más rígido es el tejido, más rápido se propaga la onda de corte. La TE mide la rigidez del hígado en un volumen que se aproxima al de un cilindro que es de 1 cm de ancho y 4 cm de largo, 25-65 mm por debajo de la superficie de la piel. Los resultados se expresan en kilo Pascales (kPa) con un rango entre 2.5 a 75 kPa cuyo valor normal es de aproximadamente 5 kPa⁵⁵. Los estudios que avalan el uso de la TE para cuantificar fibrosis se han realizado en pacientes con hepatitis C y confirmado con pacientes con hepatitis B; la prueba clasifica correctamente la cirrosis en un rango del 85% al 94% no así la fibrosis significativa con valores que van del 57% al 90%⁵⁶, como lo han confirmado los metaanálisis realizados (32 artículos y 8 resúmenes) cuyos valores de sensibilidad y especificidad fluctúan entre 0.83 y 0.89 en pacientes con cirrosis, y 0.79 y 0.78 en pacientes con fibrosis significativa⁵⁷.

La TE es una herramienta no invasiva con precisión satisfactoria y reproducible para estimar la fibrosis hepática y la esteatosis. Desafortunadamente, no siempre pueden hacerse mediciones en los pacientes obesos y comúnmente estos pueden tener resultados más elevados, incluso en la misma etapa de la fibrosis hepática⁵⁸. Es importante evaluar la esteatosis hepática, no solo porque la enfermedad de hígado graso no alcohólico es una afección hepática común, sino también porque la esteatosis a menudo coexiste con otras enfermedades crónicas hepáticas (VHC)⁵⁹.

Un nuevo parámetro físico ha sido desarrollado recientemente para evaluar la esteatosis en función de las propiedades de las señales ultrasónicas. Este parámetro de atenuación controlada es una medida de la atenuación del ultrasonido (3.5 MHz)⁶⁰, una propiedad física del medio de propagación que corresponde a la pérdida de energía en forma de ultrasonidos y que viaja a través del medio, es decir, la intensidad de los ultrasonidos emitida disminuye exponencialmente con la profundidad. En un estudio retrospectivo realizado en 115 pacientes con enfermedad crónica hepática de etiología mixta, la atenuación controlada se ha encontrado eficaz para detectar esteatosis de bajo grado (> 10%)⁵⁸.

Por otra parte, el desarrollo de las sondas S y XL tienen como objetivo atender a los diferentes grupos de población (pediátricos y obesos). La sonda S logra frecuencias más altas y mediciones menos profundas por debajo de la superficie de la piel, que se adaptan a pacientes pediátricos que tienen constitución corporal pequeña⁶¹. La sonda XL alcanza una frecuencia menor, con un transductor más sensible, con mayor longitud, gran amplitud de vibración y mayor profundidad por debajo de la superficie de la piel. Esta sonda sirve para sujetos obesos⁶².

Son pocos pero consistentes los estudios de validación para esta sonda. Uno de ellos incluye a 286 pacientes, en quienes el 92% de las mediciones con la sonda XL es más confiable que los realizados con la sonda M (80%)⁶³. Otro estudio realizado en 193 pacientes con enfermedad de hígado graso no alcohólico arrojó valores de corte razonables de ambas: sensibilidad y especificidad del 78%, valor predictivo positivo (60%) y valor predictivo negativo (89%) en F3⁶⁴. Son necesarios más estudios para definir el punto de corte adecuado para el empleo de la sonda XL en diferentes etiologías.

Excitación de fuerzas de radiación acústica súbitas

El análisis de imágenes obtenidas mediante ARFI es una tecnología nueva para realizar la medición de la rigidez del hígado en tiempo real. El uso de una sonda ecográfica estándar ofrece imágenes elastográficas en doble dimensión (2D) mediante una medición flexible con profundidad variable, lo que permite el examen de un área específica.

El ARFI implica la excitación mecánica del tejido utilizando impulsos acústicos de corta duración ($-262 \mu\text{seg}$) que se propagan generando ondas de corte del desplazamiento en el tejido, localizadas a escala micro. La velocidad de las ondas de corte (expresada en metros/seg), en comparación con la TE mide una región más pequeña (10 mm de largo y 6 mm de ancho) que puede ser elegida por el operador^{52,54}.

Las imágenes convencionales de diagnóstico por ultrasonido muestran las diferencias de las propiedades acústicas de los tejidos blandos, mientras que las imágenes por ultrasonido a base de la elasticidad representan las diferencias de las propiedades elásticas (la rigidez y la viscosidad) de los mismos.

La ventaja de la formación de imágenes basadas en la elasticidad radica en el hecho de que muchos tejidos blandos pueden compartir una capacidad similar para reflejar las ondas ultrasónicas, pero pueden tener diferentes propiedades mecánicas que pueden ser empleadas para visualizar claramente la anatomía normal y delinear las lesiones patológicas.

Los métodos de imagen de la elasticidad se basan en el uso de la fuerza de radiación acústica para deformar transitoriamente los tejidos blandos, donde se mide la respuesta de desplazamiento dinámico de los tejidos mediante ultrasonidos y se utilizan para estimar las propiedades mecánicas del tejido.

Ambas, imágenes cualitativas y mediciones de elasticidad cuantitativas, pueden reconstruirse a partir de estos datos, proporcionando información complementaria acerca de la progresión de la enfermedad tanto para diagnóstico como para seguimiento longitudinal.

Resultados preliminares indican que la exactitud de ARFI es similar a la de la elastografía. Sin embargo, la mayoría de los estudios se basan en pequeñas muestras de poblaciones heterogéneas y no siempre utilizan la biopsia hepática como referencia⁶⁵.

Elastografía por resonancia magnética.

Durante la última década se han realizado avances tecnológicos en el desarrollo de la resonancia magnética (RM) como una aplicación clínica centrada en el aprovechamiento de las propiedades fisiológicas y biomecánicas del tejido hepático humano para mejorar la detección de condiciones patológicas focales y difusas, reportándose una excelente correlación entre la rigidez y la fibrosis hepáticas⁶⁶.

Recientemente, también ha sido descrita la técnica de elastografía por RM para evaluar la rigidez en diversos tipos de tejido. La elastografía por RM utiliza una técnica modificada de contraste de fases sensible a las características de propagación de las ondas acústicas de corte que son generadas con el órgano de interés⁶⁷.

La técnica puede ser implementada en un sistema convencional de RM al que se ha añadido un hardware y software sencillo; puede añadirse a un examen de RM de la parte superior del abdomen, al colocarse en contacto con la pared abdominal del paciente en posición supina un inductor neumático o electromecánico para generar la propagación de ondas mecánicas en el hígado a frecuencias entre 40 Hz y 120 Hz. Se requiere solamente la retención de la respiración durante 10-15 seg para permitir la formación de las imágenes de la propagación de ondas en una sección transversal del abdomen^{66,68,69}.

Para capturar la imagen de las ondas que se propagan en el hígado, se emplea una secuencia de RM con contraste de fases, que utiliza gradientes de movimiento programados que oscilan sincrónicamente con las vibraciones aplicadas, permitiendo visualizar fácilmente ondas con amplitudes en el rango de micras.

Cada adquisición elastográfica proporciona una imagen que representa el desplazamiento causado por la onda propagada en el medio. Las imágenes de ondas se procesan entonces mediante un algoritmo de inversión desarrollado especialmente para generar imágenes cuantitativas que captan la rigidez del tejido llamadas elastogramas, que al ser tomados en sitios de interés en el órgano proporcionan valores de elasticidad significativos. La unidad de medida de la elasticidad es el kPa, la misma que con TE basada en el ultrasonido⁶⁶. Puede diagnosticar con gran precisión cirrosis con valores de sensibilidad y especificidad del 90%⁴⁰.

En un estudio realizado con 141 pacientes analizados mediante un examen doble (elastografía por RM y pruebas de APRI) se evaluó el estadio de fibrosis y se compararon los resultados, concluyendo que la elastografía por RM es más precisa en la estadificación de fibrosis hepática, por encima del índice APRI⁷⁰.

Ventajas y desventajas de los biomarcadores

El uso de biomarcadores presenta, como toda prueba diagnóstica, ventajas y desventajas que pueden inclinar la balanza para su empleo como método no invasivo de diagnóstico y seguimiento.

La ventaja obvia de los biomarcadores sobre la biopsia es su determinación en muestras que tienen un carácter invasivo mínimo. La toma de la biopsia requiere de anestesia local o analgesia intravenosa y/o sedación con benzodiazepinas de acción corta seguida de la punción que implica rotura de tejido, con posibilidades de complicaciones, que aunque escasas, pueden llegar a ser letales.

Dejando de lado la ventaja obvia, la principal cualidad de los métodos no invasivos para la predicción clínica de la fibrosis sobre la biopsia, probablemente, además de su fácil aplicabilidad, reproducibilidad interlaboratorio y su disponibilidad generalizada (fácil distribución), es que estas pruebas pueden evaluar el curso de las funciones y procesos fisiopatológicos,

Como un ejemplo podemos mencionar un estudio realizado con 462 pacientes infectados con VHC, no respondedores a interferón pegilado y ribavirina, con la finalidad de explorar la asociación entre los niveles de marcadores séricos de fibrosis, con el riesgo de progresión de la enfermedad clínica e histológica. La evaluación comprendió una

prueba inicial de referencia y ensayos séricos anuales de HA, péptido N-terminal de procolágena de tipo III, TIMP-1 e YKL-40. Se obtuvieron biopsias hepáticas pretratamiento y de seguimiento de todos ellos en el 2.º y 4.º año. Los resultados clínicos incluyeron datos de desarrollo de descompensación, cáncer hepatocelular, muerte o un aumento en la clasificación de Child-Turcotte-Pugh) ≥ 7 .

La línea de referencia de HA, YKL-40 y TIMP-1 en los niveles combinados con otros parámetros de laboratorio estaba asociada significativamente con los resultados clínicos en 69 pacientes con una progresión de la enfermedad del 15%, $p < 0.0001$. Todos los niveles basales de los marcadores séricos de fibrosis se asociaron significativamente con la progresión de la fibrosis histológica, desarrollada en 70 de los 209 pacientes con cirrosis (33%, $p < 0.0001$). Sin embargo, el HA y los recuentos de plaquetas fueron el mejor predictor de la progresión histológica de fibrosis (AUROC = 0.663)⁷¹. Por lo tanto, se concluyó que el HA tiene un valor predictivo para la cirrosis resultante de la infección por el VHC y su nivel sérico se correlaciona con la puntuación Child-Pugh en estos pacientes⁵⁶.

De manera independiente, los niveles de HA y PIIINP predicen la progresión de la cirrosis biliar primaria, mientras que los valores de laminina correlacionan con los niveles de Child-Pugh de la cirrosis hepática, independientemente de la etiología. Por su parte, niveles elevados de PIIINP e YKL-40 son predictivos para una supervivencia más corta en pacientes con cirrosis por alcohol²³. En relación con el grado de fibrosis, los niveles séricos de YKL-40 determinados por radioinmunoanálisis en el suero de 129 pacientes, comparados con sueros de enfermos sin fibrosis, el aumento de esta molécula fue significativa ($p < 0,001$) para individuos con fibrosis de moderada (466 $\mu\text{g/l}$) a severa (676 $\mu\text{g/l}$). YKL-40 también se incrementó ($p = 0,018$) en sujetos con fibrosis leve (270 $\mu\text{g/l}$)²³.

Un estudio retrospectivo de 1,457 pacientes con VHC, hecho en Francia, comparó la capacidad de diferentes métodos no invasivos (FT, APRI, FIB-4 y TE) para predecir el grado de supervivencia y muerte relacionadas con el daño hepático. Los resultados de FT arrojaron valores predictivos altos por un lapso de hasta 5 años, los cuales no variaron aun después de ser ajustados en función de la respuesta al tratamiento, edad del paciente, o las estimaciones de grado de necroinflamatorio⁵³. En términos generales, el uso de estos métodos no invasivos representa una alternativa al empleo de la biopsia tradicionalmente aceptada, sobre todo en países europeos.

Actualmente, entre las principales desventajas de los biomarcadores podemos mencionar: 1) ninguno de ellos es específico para el hígado, 2) sus resultados pueden ser influidos por condiciones comórbidas y 3) requieren de una interpretación crítica de los mismos.

El FibroTest y el HepaScore producen falsos positivos en pacientes con síndrome de Gilbert o con hiperbilirrubinemia debido a la presencia de hemólisis en el suero⁷².

Asimismo, en las pruebas APRI, índice de Forns o FibroMeter, la hepatitis aguda puede producir falsos positivos debido a que todos ellos miden los niveles de aminotransferasas y estas también se elevan en otras enfermedades hepáticas no fibrosantes.

Por otra parte, los niveles séricos del marcador dependen del nivel de eliminación de la molécula, la cual es influida

por la disfunción de las células endoteliales hepáticas y el deterioro de la excreción biliar o renal. Estos niveles reflejan no solo el depósito de la MEC, sino la medida del recambio de la matriz hepática y tienen la tendencia a ser más elevados cuando hay actividad inflamatoria alta. Como consecuencia, el depósito de matriz puede no ser detectado en presencia de una inflamación mínima²³.

Otra desventaja reside en que su evaluación se limita a una condición patológica específica (ejemplo, enfermedad hepática alcohólica) y el rendimiento del mismo se compara con el de uno o más paneles y, debido a esto, la contribución exacta del marcador recién descrito se dificulta⁷³.

A la fecha podemos hablar de que una de las principales desventajas observada en este tipo de pruebas es la discordancia entre la sensibilidad y la especificidad, lo que no ha permitido hasta ahora elegir una de ellas con resultados certeros para cualquier tipo o grado de la enfermedad fibrótica.

Las variaciones en la sensibilidad o especificidad deben esperarse cada vez que alguna característica de los pacientes o de la enfermedad influya en los resultados de la prueba, debido a un fenómeno fisiológico o biológico predecible^{74,75}.

Finalmente, otra de sus grandes desventajas es que la mayoría de estos marcadores solo pueden detectar etapas muy tempranas o estadios avanzados de la enfermedad, con una clara incapacidad para discriminar las etapas intermedias.

Al referirnos a los métodos físicos, podemos decir que la principal ventaja del ARFI es su facilidad de implementación en una máquina de ultrasonido comercial modificada (Acuson 2000 Cuantificación Virtual tejido táctil; Siemens Healthcare, Erlangen, Alemania). Sin embargo, los valores de ARFI, en contraste con valores de TE, tienen un margen estrecho (0.5-4.4 m/seg). Esta particularidad limita los valores de corte para decidir la clasificación de los pacientes^{19,21}.

En teoría las ventajas de la elastografía por RM incluyen su capacidad para analizar casi todo el hígado y su aplicabilidad a pacientes con obesidad o ascitis. Sin embargo, la elastografía por RM no se puede realizar en los hígados de pacientes con sobrecargas de hierro debido a las limitaciones por señal-ruido, además de ser demasiado costoso y requerir mucho tiempo de la práctica de rutina⁶⁶.

Por otra parte, la TE tiene como ventajas que es un procedimiento de tiempo corto (< 5 min), con obtención de resultados inmediatos. El procedimiento es muy fácil de aprender, sin embargo los resultados precisos requieren: de una interpretación cuidadosa, una tasa de éxito (relación de mediciones válidas por el número total de mediciones) por encima del 60%, y un rango intercuartílico (IQR) que refleje las variaciones entre mediciones de menos del 30% del valor de la mediana (IQR/M, 30%)⁷⁶.

La TE no es recomendable en pacientes obesos y con ascitis, ya que estas condiciones hacen difícil obtener buenos resultados; también se ha visto que las anomalías en el tejido como edema, inflamación por colestasis extrahepática o congestión pueden interferir con la medición de la dureza del hígado; independientemente de la fibrosis, la influencia de la esteatosis aun está en debate⁷⁷.

La única tecnología que actualmente viene a competir con la elastografía por ultrasonido es la elastografía por RM, ya que no está limitada por la presencia de hueso o de gas, es sensible al movimiento en 3 dimensiones, con adquisición

de volumen de alta velocidad, puede ser realizada por practicantes relativamente no calificados y la interpretación de sus resultados es muy sencilla⁷⁸.

La valoración por ultrasonido de la tensión del tejido blando y la elasticidad es generalmente más competitiva, que la RM, el acceso a un escáner es mucho más conveniente para los pacientes y practicantes y el costo general por investigación es mucho menor.

Avances y perspectivas

La búsqueda de nuevos marcadores generó una amplia variedad de candidatos los cuales, al ser evaluados en forma minuciosa, se han ido reduciendo en función de los requerimientos necesarios que se espera cubra una prueba de este tipo. El número de muestras y controles para su validación constituye un desafío técnico importante, lo mismo que la estimación del valor relativo de los nuevos marcadores biológicos, en comparación con los paneles predictores no invasivos existentes.

El rendimiento de cada biomarcador se compara con el o los beneficios que exhiben uno o más paneles, además de limitar su evaluación a una condición patológica (ejemplo, enfermedad hepática alcohólica), y debido a esto, la contribución exacta de cada biomarcador recién descrito se dificulta⁷³.

La aparición de tecnologías nuevas tales como la proteómica, que evalúa patrones de proteínas o glucoproteínas por espectroscopia de masas utilizando muestras de suero, ha mostrado una aplicabilidad limitada, al no poder discriminar la etiología de las enfermedades no hepáticas.

Por ejemplo, Callewaert et al. desarrollaron un estudio basándose en la presencia de proteínas totales N-glucosiladas (GlycoCirrhoTest y GlycoFibro Test), con suero de pacientes con enfermedad hepática crónica; al tratar de distinguir cirrosis con la combinación de las 2 pruebas, se obtuvo una sensibilidad del 79% y una especificidad del 86%⁷⁹. Por otra parte, las mismas modificaciones en las proteínas séricas (glucosilación) aparecen de forma continua en todas las enfermedades hepáticas⁸⁰, por lo que es necesario ampliar estos estudios prospectivos para determinar la aplicación clínica de estas técnicas. Por otra parte, el FastLec-Hepa es un sistema preciso que puede evaluar el tratamiento de los pacientes con VHC; basado en un inmunoanálisis que detecta la hiperglucosilación de la proteína de unión a Mac-2 (M2BP), es sensible y cuantitativo para calcular los efectos terapéuticos del interferón- α -PEG y ribavirina en un corto intervalo postterapéutico. La progresión de la fibrosis es equivalente a -0.30 etapas por año, en pacientes con respuesta viral sostenida y 0.01 etapas por año, en pacientes con recaída o no respondedores. FastLec-Hepa está disponible actualmente para evaluar en forma indirecta la correlación existente entre la terapia y la cuantificación de glucosilación de esta proteína activada durante las enfermedades fibroproliferativas, sin haber sido desarrollado específicamente con este fin⁸¹.

La fosfoproteómica puede mejorar el conocimiento de la patogénesis de la fibrosis hepática, utilizando los perfiles fosforilados de las proteínas que participan en las vías de señalización de este proceso, como ha sido demostrado por Younossi et al.⁸², cuyos resultados muestran que los

biomarcadores fosfoproteicos podrían ser utilizados potencialmente en un entorno clínico para identificar a los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica; proporciona información acerca de las vías metabólicas que pueden estar implicadas en la patogenia de la enfermedad.

En resumen, a pesar de que han surgido nuevas tecnologías, los patrones proteicos obtenidos, ya sea por glucosilación o fucosilación, presentan dificultades en el momento de la diferenciación tanto del estadio como de la especificidad de la fibrosis.

Por otra parte, debido a la dificultad para evaluar cada uno de estos marcadores, se ha recurrido a la comparación estadística entre ellos como lo reporta el análisis más reciente realizado sobre 172 estudios que evaluaron la precisión diagnóstica de marcadores de fibrosis y cirrosis. Los resultados obtenidos para fibrosis fueron: medianas positivas de los cocientes de probabilidad de 5-10 puntos de corte y AUROC (0.71 a 0.86) para el recuento de plaquetas, APRI, FibroIndex, FibroTest, y el índice de Forns; y para cirrosis, AUROC (0.80 a 0.91) en el recuento de plaquetas, APRI y HepaScore. Los autores describen que la principal dificultad para realizar este tipo de estudios es la falta de descripción metodológica y la escasa interpretación de la biopsia hepática, además de la insuficiencia de los métodos de inclusión⁸³.

Conclusiones y discusión

El manejo exitoso del tratamiento en las enfermedades crónicas del hígado depende de la estadificación correcta de la fibrosis. Con el fin de proporcionar los medios para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad y su respuesta a la terapia, se requiere de la realización de pruebas reproducibles y no invasivas. El proceso de fibrogénesis es una respuesta común del hígado, cuando se presenta una lesión crónica producida por una variedad de agresiones, como parte del desarrollo de la enfermedad³, lo que ha dificultado la búsqueda adecuada de biomarcadores específicos y se ha convertido en un reto en la hepatología traslacional.

Se están desarrollando una serie de técnicas no invasivas que van desde ensayos séricos hasta la obtención de imágenes. Entre los métodos no invasivos más exitosos están, el FibroScan y la elastometría, además de los basados en ensayos serológicos como APRI y FibroTest¹⁹. Existen otras pruebas que aún no han sido validadas pero son prometedoras. La validación, además de incluir gran cantidad de pacientes, debe contemplar otros factores importantes, como el índice de masa corporal, la etnia, y la etiología de la enfermedad hepática⁷³.

Es importante destacar que la mayoría de las pruebas no invasivas no son capaces de diferenciar con certeza etapas tempranas de la fibrosis. De hecho, la mayoría de estas pruebas pueden distinguir principalmente cirrosis de fibrosis mínima. A la fecha, las pruebas no invasivas para el diagnóstico de fibrosis significativa ($F > 2$) no pueden sustituir a la biopsia. Por lo tanto, la utilidad actual del diagnóstico no invasivo sigue siendo limitado, ya que solamente permite al médico reducir la población de pacientes candidatos a una biopsia hepática.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado con fondos proporcionados por UNAM-PAPIIT IN-205210, UNAM-PAPIIT IT-201213, y SEP-CONACYT 84837.

Conflicto de intereses

Los autores no tienen conflicto de intereses en relación con el artículo que se remite para publicación.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Rubén D. Martínez, Dr. Jaime Berúmen Campos, Dr. Julio César Carrero Sánchez y al Dr. Max Julio Schmulson Wasserman sus comentarios para la elaboración de este artículo.

Bibliografía

1. Rojkind M, Greenwel P. The extracellular matrix and the liver. En: Arias IM, Boyer JL, Fausto N, et al., editores. *The liver: Biology and pathology*. 3th ed New York: Raven Press; 1994. p. 843-68.
2. Bedossa P, Paradis V. Liver extracellular matrix in health and disease. *J Pathol*. 2003;200:504-15.
3. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem*. 2000;275:2247-50.
4. Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS). Informe de funciones generales de la Secretaría de Salud, 2008 [consultado 14 Feb 2013]. Disponible en: <http://www.sinais.salud.gob.mx/mortalidad/index.html>
5. Sebastiani G, Alberti A. Non invasive fibrosis biomarkers reduce but not substitute the need for liver biopsy. *World J Gastroenterol*. 2006;12:3682-94.
6. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996;24:289-93.
7. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, et al. Sampling error and intra-observer variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:2614-8.
8. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, et al. 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.
9. Siddique I, El-Naga HA, Madda JP, et al. Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scand J Gastroenterol*. 2003;38:427-32.
10. Janiec DJ, Jacobson ER, Freeth A, et al. Histologic variation of grade and stage of non-alcoholic fatty liver disease in liver biopsies. *Obes Surg*. 2005;15:497-501.
11. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:1449-57.
12. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, et al. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68 276 biopsies. *J Hepatol*. 1986;2:165-73.
13. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, et al. Liver biopsy. *Hepatology*. 2009;49:1017-44, <http://dx.doi.org/10.1002/hep.22742>.
14. Terjung B, Lemnitzer I, Dumoulin FL, et al. Bleeding complications after percutaneous liver biopsy. An analysis of risk factors. *Digestion*. 2003;67:138-45.

15. West J, Card TR. Reduced mortality rates following elective percutaneous liver biopsies. *Gastroenterology*. 2010;139:1230-7. Publicación electrónica 12 Jun 2010.
16. Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Biomarkers of liver fibrosis: Clinical translation of molecular pathogenesis or based on liver dependent malfunction tests. *Clin Chim Acta*. 2007;381:107-13.
17. Iredale JP. Models of liver fibrosis: Exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest*. 2007;117:539-48.
18. Plebani M, Burlina A. Biochemical markers of hepatic fibrosis. *Clin Biochem*. 1991;24:219-39.
19. Castera L. Noninvasive methods to assess liver disease in patients with hepatitis B or C. *Gastroenterology*. 2012;142:1293-302.
20. Zhou K, Lu LG. Assessment of fibrosis in chronic liver diseases. *J Dig Dis*. 2009;10:7-14.
21. Baranova A, Lal P, Birerdinc A, et al. Non-invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterol*. 2011;11:91.
22. Gressner AM, Gao CF, Gressner OA. Non-invasive biomarkers for monitoring the fibrogenic process in liver: A short survey. *World J Gastroenterol*. 2009;15:2433-40.
23. Grigorescu M. Noninvasive biochemical markers of liver fibrosis. *J Gastrointest Liver Dis*. 2006;15:149-59.
24. Haukeland JW, Schreiner LT, Lorgen I <ET AL>. AST/ALT ratio provides prognostic information independently of Child-Pugh class, gender and age in non-alcoholic cirrhosis. *Scand J Gastroenterology*. 2008;43:1241-8.
25. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician*. 2005;71:1105-10.
26. Green RM, Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. *Gastroenterology*. 2002;123:1367-84.
27. Giannini E, Rizzo D, Botta F <ET AL>. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Arch Intern Med*. 2003;163:218-24.
28. Croquet V, Vuillemin E, Ternisien C, et al. Prothrombin index is an indirect marker of severe liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2002;14:1133-41.
29. Pilette C, Oberti F, Aubé C, et al. Non-invasive diagnosis of esophageal varices in chronic liver diseases. *J Hepatol*. 1999;31:867-73.
30. Jarcuska P, Janicko M, Veseliny E, et al. Circulating markers of liver fibrosis progression. *Clin Chim Acta*. 2010;411:1009-17.
31. Murawaki Y, Koda M, Okamoto K, et al. Diagnostic value of serum type IV collagen test in comparison with platelet count for predicting the fibrotic stage in patients with chronic hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001;16:777-81.
32. Kanzler S, Baumann M, Schirmacher P, et al. Prediction of progressive liver fibrosis in hepatitis C infection by serum and tissue levels of transforming growth factor beta. *J Viral Hepat*. 2001;8:430-7.
33. Lydatakis H, Hager IP, Kostadelou E, et al. Non-invasive markers to predict the liver fibrosis in non alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2006;26:864-71.
34. Greenlee KJ, Werb Z, Kheradmand F. Matrix metalloproteinases in lung: Multiple, multifarious, and multifaceted. *Physiol Rev*. 2007;87:69-98.
35. Mölleken C, Sitek B, Henkel C, et al. Detection of novel biomarkers of liver cirrhosis by proteomic analysis. *Hepatol*. 2009;49:1257-66.
36. Adams LA, George J, Burgianesi E, et al. Complex non-invasive fibrosis models are more accurate than simple models in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26:1536-43.
37. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: A prospective study. *Lancet*. 2001;357:1069-75.
38. Lu LG, Zeng MD, Mao YM, et al. Relationship between clinical and pathologic findings in patients with chronic liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2003;9:2796-800.
39. Nguyen-Khac E, Chatelain D, Tramier B, et al. Assessment of asymptomatic liver fibrosis in alcoholic patients using FibroScan: prospective comparison with seven non-invasive laboratory tests. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28:1188-98.
40. Ahmad W, Ijaz B, Gull S, et al. A brief review on molecular, genetic and imaging techniques for HCV fibrosis evaluation. *Virology*. 2011;8:53.
41. Dalla Piazza M, Amorosa VK, Localio R, et al. Prevalence and risk factors for significant liver fibrosis among HIV-monoinfected patients. *BMC Infect Dis*. 2010;10:116.
42. 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;53:726-36.
43. Wenwen J, Zhonghua L, Yongning X, et al. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis B-related fibrosis: A leading meta-analysis. *BMC Gastroenterol*. 2012;12:14.
44. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002;36:986-92.
45. Guechot J, Lasnier E, Sturm N, et al. Automation of the Hepascore and validation as a biochemical index of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C from the ANRS HC EP 23 Fibrosar cohort. *Clin Chim Acta*. 2010;411:86-91.
46. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, et al. Hepascore: An accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem*. 2005;51:1867-73.
47. Imbert-Bismut F, Messous D, Thibault V, et al. Intra-laboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (Actitest) and reference ranges in healthy blood donors. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:323-33.
48. Poynard T, Munteanu M, Deckmyn O, et al. Validation of liver fibrosis biomarker (FibroTest) for assessing liver fibrosis progression: proof of concept and first application in a large population. *J Hepatol*. 2012;57:541-8.
49. Kim BK, Kim SU, Kim HS. Prospective validation of FibroTest in comparison with liver stiffness for predicting liver fibrosis in Asian subjects with chronic hepatitis B. *PLoS One*. 2012;7:e35825.
50. Munteanu M, Ratziu V, Morra R, et al. Noninvasive biomarkers for the screening of fibrosis, steatosis and steatohepatitis in patients with metabolic risk factors: FibroTest-FibroMax experience. *J Gastrointest Liver Dis*. 2008;17:187-91.
51. Fouad A, Sabry D, Ahmed R, et al. Comparative diagnostic study of biomarkers using FibroMax™ and pathology for prediction of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: an Egyptian study. *Int J Gen Med*. 2013;6:127-34.
52. Palmeri ML, Nightingale KR. Acoustic radiation force-based elasticity imaging methods. *Interface Focus*. 2011;1:553-64.
53. Vergniol J, Foucher J, Terreboune E, et al. Noninvasive tests for fibrosis and liver stiffness predict 5 years outcomes of patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2011;140:1970-9, 1970.e1-3.
54. Nightingale K. Acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging: A review. *Curr Med Imaging Rev*. 2011;7:328-39.
55. Kim SU, Choi GH, Han WK. What are «true normal» liver stiffness values using FibroScan? A prospective study in healthy living liver and kidney donors in South Korea. *Liver Int*. 2010;30:268-74.

56. Degos F, Perez P, Roche B, et al., FIBROSTIC study group. Diagnostic accuracy of FibroScan and comparison to liver fibrosis biomarkers in chronic viral hepatitis: A multicenter prospective study (the FIBROSTIC study). *J Hepatol.* 2010;53:1013–21.
57. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology.* 2008;134:960–74.
58. Wong GL. Trasiente elastography: Kill two birds with one stone? *World Hepatol.* 2013;5:264–74.
59. Clouston AD, Jonsson JR, Powell EE. Steatosis as a cofactor in other liver diseases: Hepatitis C virus, alcohol, hemochromatosis, and others. *Clin Liver Dis.* 2007;11:173–89.
60. Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, et al. Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE™ guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: Preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med Biol.* 2010;36:1825–35.
61. Engelmann G, Gebhardt C, Wenning D, et al. Feasibility study and control values of transient elastography in healthy children. *Eur J Pediatr.* 2012;171:353–60.
62. De Lédinghen V, Vergniol J, Foucher J, et al. Feasibility of liver transient elastography with FibroScan using a new probe for obese patients. *Liver Int.* 2010;30:1043–8.
63. De Lédinghen V, Wong VW, Vergniol J, et al. Diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement: Comparison between M and XL probe of FibroScan®. *J Hepatol.* 2012;56:833–9.
64. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, et al. Liver stiffness measurement using XL probe in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2012;107:1862–71.
65. Forestier N, Gaus A, Herrmann E, et al. Acoustic radiation force impulse imaging for evaluation of antiviral treatment response in chronic hepatitis C. *J Gastrointest Liver Dis.* 2012;21:367–73.
66. Talwalkar JA, Yin M, Fidler JL, et al. Magnetic resonance imaging of hepatic fibrosis: Emerging clinical applications. *Hepatology.* 2008;47:332–42.
67. Naganawa S, Kawai H, Fukatsu H, et al. Diffusion-weighted imaging of the liver: Technical challenges and prospects for the future. *Magn Reson Med Sci.* 2005;4:175–86.
68. Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, et al. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastro Hep.* 2007;5:1207–13.
69. Klatt D, Asbach P, Rump J, et al. In vivo determination of hepatic stiffness using steady-state free precision magnetic resonance elastography. *Invest Radiol.* 2006;41:841–8.
70. Huwart L, Sempoux C, Vicaut E, et al. Magnetic resonance elastography for the noninvasive staging of liver fibrosis. *Gastroenterology.* 2008;135:32–40, <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.03.076>. Publicación electrónica 4 Abr 2008.
71. Fontana RJ, Dienstag JL, Bonkovsky HL, et al., HALT-C Trial Group. Serum fibrosis markers are associated with liver disease progression in nonresponder patients with chronic hepatitis C. *Gut.* 2010;59:1401–9.
72. 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;10:1.
73. Park SH, Kim CH, Kim D, et al. Usefulness of multiple biomarkers for the prediction of significant fibrosis in chronic hepatitis B. *J Clin Gastroenterol.* 2011;45:361–5.
74. Willis BH. Spectrum bias—why clinicians need to be cautious when applying diagnostic test studies. *Family Practice.* 2008;25:390–6.
75. Goehring C, Perrier A, Morabia A. Spectrum bias: a quantitative and graphical analysis of the variability of medical diagnostic test performance. *Statist Med.* 2004;23:125–35.
76. Myers RP, Crotty P, Pomier-Layrargues G, et al. Prevalence, risk factors and causes of discordance in fibrosis staging by transient elastography and liver biopsy. *Liver Int.* 2010;30:1471–80.
77. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, et al. Etiology-related determinants of liver stiffness values in chronic viral hepatitis B or C. *J Hepatol.* 2011;54:621–8.
78. Wells PN, Liang HD. Medical ultrasound: imaging of soft tissue strain and elasticity. *J R Soc Interface.* 2011;8:1521–49.
79. Callewaert N, Vlierberghe HV, Hecke AV, et al. Non invasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequence-based total serum protein glycomics. *Nat Med.* 2004;10:429–34.
80. Blomme B, Van Steenkiste C, Callewaert N, et al. Alteration of protein glycosylation in liver diseases. *J Hepatol.* 2009;50:592–603.
81. Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y. A serum “sweet-doughnut” protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep.* 2013;3:1065.
82. Younossi ZM, Baranova A, Stepanova M, et al. Phosphoproteomic biomarkers predicting histologic nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis. *J Proteome Res.* 2010;9:3218–24.
83. Chou R, Wasson N. Blood tests to diagnose fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2013;158:807–20.