

Comment évaluer la fibrose hépatique en dehors de la PBH ?

Introduction

La fibrose hépatique est la conséquence de toutes les maladies chroniques du foie quelle qu'en soit la cause. La cirrhose représente le stade évolué de la fibrose et s'accompagne d'une perte progressive des fonctions hépatiques et de l'apparition d'une hypertension portale. Le diagnostic de fibrose repose classiquement sur l'examen anatomo-pathologique d'un fragment de foie recueilli par une ponction biopsie hépatique. Cependant, cet examen est invasif. Ainsi, depuis plus de 10 ans, de nombreuses équipes ont étudié la précision diagnostique de marqueurs biologiques directs ou indirects de la fibrose. Depuis 1997, plusieurs scores associant différents paramètres directs ou indirects de la fibrose ont été proposés pour augmenter la précision diagnostique d'une fibrose significative ou d'une cirrhose.

Mécanismes de la fibrose hépatique

La fibrose est caractérisée par l'accumulation de constituants normaux de la matrice extracellulaire dans le foie et résulte d'un déséquilibre entre leur synthèse, leur dépôt et leur dégradation.

La matrice extracellulaire (MEC) hépatique représente chez l'homme moins

de 3 % du poids du foie normal. Elle est localisée dans la capsule, les espaces portes où elle s'organise en matrice interstitielle et en lame basale autour des vaisseaux et des canaux biliaires. Elle est également présente dans la paroi des veines centrolobulaires et dans l'espace de Disse où elle ne forme pas une lame basale continue. Cette matrice est constituée d'un assemblage complexe de macromolécules réparties en cinq groupes : les collagènes, les glycoprotéines, l'élastine, les protéoglycanes et les glycosaminoglycanes.

Les collagènes (types I, III, IV, V, VI) sont les principaux composants de la MEC. Ceux de types I et III représentent 80 % du collagène total et sont les principales protéines structurales de la matrice interstitielle alors que le collagène de type IV est un composant des lames basales. Les glycoprotéines regroupent un grand nombre de molécules dont les plus abondantes dans le foie sont la fibronectine et la laminine. L'élastine est présente au niveau des parois des vaisseaux et au sein de la matrice interstitielle. Les protéoglycanes sont des molécules hydrophiles qui forment un gel occupant les espaces laissés libres par les autres composants matriciels. L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane qui permet l'association des protéoglycanes entre elles.

La matrice extracellulaire est un tissu en perpétuel remodelage au sein duquel



M. BOURLIÈRE
(Marseille)

les cellules peuvent migrer et interagir. Dans le foie normal, la production (fibrogenèse) et la dégradation (fibrolyse) de la matrice sont en équilibre. Au cours des agressions chroniques, quelle qu'en soit la cause, la fibrogenèse l'emporte sur la dégradation, aboutissant au développement d'une fibrose extensive.

Les cellules stellaires quiescentes du foie ou cellules périsinusoidales du foie ou cellules de Ito ont un rôle déterminant dans la fibrogenèse. Sous l'effet répété des agressions virales, auto-immunes, biliaires, toxiques ou mécaniques, les hépatocytes, les cellules endothéliales, les cellules de Kupffer ou les lymphocytes vont sécréter un certain nombre de cytokines. Ces cytokines vont entraîner la transformation des cellules quiescentes du foie en myofibroblastes caractérisés par la présence de filaments d'alpha-actine de type musculaire lisse. Ces cellules vont produire en grande quantité des collagènes. Ceci aboutit à une accumulation excessive de la matrice aux dépens du parenchyme hépatique (4 à 10 fois la quantité de matrice d'un foie normal), mais aussi à une distribution anormale de composants matriciels dans des territoires qui en sont normalement dépourvus. Si la quantité de matrice extracellulaire est comparable dans les différentes étiologies, leur distribution varie en fonction de l'agression.

La dynamique de la fibrose implique parallèlement à la synthèse des protéines, un processus de dégradation sous la dépendance de métalloprotéases matricielles (MMP). Dans le foie, les cellules périsinusoïdales et les cellules de Kupffer sont à l'origine de la synthèse et de la régulation de ces enzymes. Les myofibroblastes synthétisent aussi des inhibiteurs de ces métalloprotéases, spécifiques (TIMP) ou non spécifiques, comme l'alpha2-macroglobuline. Ils ont aussi une action inhibitrice sur la synthèse des MMP.

La transformation des cellules quiescentes du foie en myofibroblastes est en fait plus complexe. Elle se caractérise d'abord par l'apparition de filaments d'alpha-actine et ensuite par l'acquisition de récepteurs de cytokines au niveau de la membrane, résultant d'interactions avec les cellules de Kupffer, les hépatocytes et les plaquettes. Deux cytokines ont un rôle majeur dans la deuxième étape de perpétuation de l'activation : le platelet derived growth factor (PDGF), puissant facteur de prolifération des cellules et le transforming growth factor beta (TGFβ) qui va contribuer à la synthèse des protéines et à leur dépôt. Les cellules de Kupffer et surtout les macrophages nouvellement recrutés au niveau des sites inflammatoires ainsi que les plaquettes sont la source principale paracrine de ces deux médiateurs, mais un mécanisme d'autostimulation a été mis en évidence pour le TGFβ qui serait responsable de la perpétuation du processus fibrogénique dans les maladies du foie. La régulation de la synthèse des protéines matricielles par les cytokines est en réalité plus complexe ; si le TGFβ1 représente le stimulus majeur de cette synthèse, de nombreux autres facteurs initiateurs ou modulateurs interagissent, parmi lesquels le tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) et l'interleukine 1, occupent une place importante pendant la phase précoce de la fibrose. Le remodelage de la MEC est un élément clé dans l'évolution des fibroses tissulaires. On sait actuellement que l'irréversibilité d'un dépôt fibreux est liée à la présence de cross links en quantité importante, pouvant être mesurée dans le foie. La lysyl oxydase est

une enzyme importante intervenant dans la stabilisation des fibres de collagènes et la formation de ces cross links ; sa concentration hépatique augmente au cours de la fibrose et elle représente un marqueur précoce de fibrose.

Les connaissances accrues sur la structure, les fonctions et le métabolisme de la MEC ont stimulé la recherche de marqueurs sériques de fibrose et ont abouti à un certain nombre de conclusions en terme de dynamique de la fibrose. Ainsi, l'augmentation du propeptide N-terminal du procollagène de type III (PIIINP), du TIMP1 et du TGFβ reflètent une fibrogenèse active quel que soit le stade de l'hépatopathie. Le taux de collagène de type I traduit la quantité de collagène déposée dans le foie, tandis que les collagènes de type IV, VI et XIV, le fragment P1 de la laminine, la tenascine et l'acide hyaluronique reflètent le turnover des lames basales et montrent une bonne corrélation avec l'hypertension portale. Le collagène de type VI et l'unduline sont associés à la fibrolyse et au remodelage du tissu conjonctif interstitiel. Le dosage des MMP2 et MMP9 reflète aussi la fibrolyse [1-3].

Ponction biopsie hépatique : examen de référence ?

La ponction biopsie hépatique (PBH) permettant l'examen anatomo-pathologique du foie recueilli, est l'examen habituel pour apprécier le degré et la distribution des principales lésions hépatiques : activités nécrotico-inflammatoires, fibrose, stéatose, agrégats lymphocytaires et lésions biliaires ou vasculaires. L'examen anatomo-pathologique permet par ailleurs une orientation étiologique, montre la distribution topographique des lésions et éventuellement la présence concomitante de plusieurs affections. L'importance de la fibrose est décrite en routine de façon semi-quantitative en utilisant des scores de précision variables qui sont parfois peu reproductibles hormis le score Métavir [4].

Cependant la PBH reste un geste invasif comportant des risques de mor-

bidité de 0,3 % à 0,6 % et un risque de mortalité de 0 à 0,05 % [5]. Elle ne peut donc être renouvelée facilement. La PBH est un examen coûteux dont le coût varie selon la pratique mais est estimé à près de 1 000 euros. Par ailleurs, le vécu agressif de la PBH par les malades et les médecins généralistes est un frein notamment à la prise en charge des malades atteints d'hépatite C, comme le montre le travail du Réseau Auvergne [6]. La fiabilité de la PBH par rapport à la laparoscopie peut être prise en défaut notamment pour le diagnostic de cirrhose dans 20 à 32 % des cas [7, 8]. Une étude montre une différence du score de fibrose d'au moins 1 stade entre les biopsies du foie droit et du foie gauche chez 33 % des patients [9]. Enfin, une étude réalisée à partir de pièces chirurgicales de résection hépatique, montre que la fibrose est estimée de façon correcte chez 65 % des patients ayant une PBH < 15 mm de long et chez 75 % des patients ayant une PBH de 25mm de long [10]. Or, dans une étude récente, seuls 14 % des patients d'une cohorte de 537 patients atteints d'hépatite chronique C avaient une PBH d'au moins 25 mm de long [11].

Par ailleurs, l'histologie hépatique ne permet pas d'apprécier la « dynamique » du processus fibrosant et ne peut évaluer indépendamment l'importance des mécanismes de fibrogenèse et de dégradation du tissu fibreux. Par contre, les techniques d'immunohistochimie des constituants de la matrice extracellulaire peuvent avoir un intérêt pour déterminer le stade évolutif de la fibrose. Ainsi, les dépôts de ténascine reflètent un stade précoce de la fibrose, alors que les dépôts de vitronectine reflètent un stade plus avancé et potentiellement moins réversible de la fibrose [12, 13].

Ainsi, si la PBH a un intérêt pour dépister et quantifier la fibrose, elle est surtout intéressante pour étudier les co-morbidités ou les pathologies associées. Sa fiabilité en matière d'appréciation de la fibrose est relative, plus du fait d'un problème d'échantillonnage que d'un problème lié à l'observateur. Toutes ces données ne font pas de la PBH l'examen de référence en matière de quantification de la

fibrose et justifient la quête de nouveaux marqueurs non invasifs de fibrose.

Enfin, de façon pragmatique, l'augmentation des indications de quantification de la fibrose, liée notamment à l'augmentation de la prise en charge de l'hépatite C dans les 15 dernières années, rend nécessaire l'utilisation de méthodes non invasives de diagnostic pour assurer une meilleure prise en charge des patients. En effet, en France, près de 600 000 patients sont atteints d'hépatite C et le nombre estimé de ponction biopsie hépatique réalisée annuellement est proche de 16.000 dont la moitié sont réalisées dans le cadre de la prise en charge de l'hépatite C.

Les alternatives à la ponction biopsie hépatique

Les techniques d'imagerie

L'échographie abdominale couplée à l'étude doppler de la VP a une bonne performance diagnostique (PD) (82-88 %) pour la détermination d'une fibrose extensive ou d'une cirrhose [14]. Cependant, celle-ci reste inférieure à la performance diagnostique des marqueurs sériques [15]. Pour le diagnostic de cirrhose, une étude récente de la même équipe montre que l'utilisation de données doppler des veines sus hépatiques, associée à la vélocité portale et à la taille de la rate ont une performance diagnostique de 89 à 92 % [16]. Un échec de la méthode est observé chez 6 % des patients et les études échographiques et doppler sont opérateurs dépendants ce qui limite leur diffusion.

L'IRM de diffusion montre des résultats intéressants et prometteurs pour le diagnostic de cirrhose avec une bonne corrélation avec le score de Child-Pugh et le dosage de l'acide hyaluronique [17].

Cependant, pour le diagnostic de fibrose débutante, aucune de ces techniques n'a d'intérêt.

L'élastométrie est une approche plus prometteuse et reproductible de la quantification de la fibrose. L'élastographie ultrasonore impulsionnelle

(Fibroscan) permet de mesurer de façon objective, quantitative et indépendante de l'opérateur, la dureté du foie qui est corrélée au degré de fibrose hépatique. L'étude initiale sur 91 patients atteints d'hépatite C montre une excellente performance diagnostique évaluée par l'aire sous la courbe ROC (AUROC) avec une PD de 0,90, 0,88, 0,91 et 0,99 pour une fibrose respectivement \geq F1, F2, F3 et égale à F4 [18]. Une étude multicentrique récente portant sur 327 patients atteints d'hépatite C confirme ces résultats avec une performance diagnostique de 0,79, 0,91 et 0,97 pour une fibrose respectivement \geq F2, F3 et égale à F4. Cette étude a permis de déterminer des valeurs seuils d'élasticité en rapport avec les stades METAVIR de fibrose : $>$ 8,7 kPA pour une fibrose $>$ F2 et 14,5 kPA pour une fibrose à F4 [19]. L'élastographie ultrasonore impulsionnelle est une méthode prometteuse de quantification de la fibrose hépatique.

Les marqueurs sanguins ou urinaires

La nécessité de ces marqueurs est attestée par le très grand nombre d'études consacrées à ce sujet depuis 15 ans. Le ou les marqueurs idéaux de fibrose devraient répondre à plusieurs caractéristiques : 1) être spécifiques du foie ; 2) être indépendants des anomalies métaboliques ; 3) Ne pas être influencés par les altérations du système réticuloendothélial ou rénal ; 4) être peu ou pas influencés par des facteurs extra hépatiques ; 5) être assez sensibles pour différencier les différents stades de fibrose, être corrélés au contenu matriciel et pouvoir mesurer la part respective de la fibrogenèse et de la fibrolyse ; 6) être faciles à réaliser et reproductibles afin de pouvoir assurer leur développement [20].

Les marqueurs étudiés peuvent être distingués en deux groupes, d'une part, les tests usuels du bilan hépatique ; d'autre part, les dosages des substances qui entrent dans la composition de la matrice extracellulaire ou qui sont impliquées dans son remodelage. Enfin, à partir de ces tests, des scores combinant ces différents paramètres, ont été proposés.

LES TESTS USUELS OU LES MARQUEURS INDIRECTS DE FIBROSE

Parmi les marqueurs indirects de fibrose, l'activité des transaminases, les plaquettes et le taux de prothrombine ont été les plus étudiés.

La valeur des transaminases seules pour l'appréciation du degré de fibrose est faible [15, 21-22]. Une seule étude montre une bonne valeur prédictive positive (99 %) de L'ALAT supérieure à la normale pour le diagnostic de fibrose hépatique \geq F1 au cours des hépatites chroniques C mais L'ALAT normale avait une valeur prédictive négative pour une fibrose \geq F1 de 35 %, ce qui théoriquement suggère de ne faire une PBH qu'en cas de transaminases normales [23]. Plusieurs études montrent une bonne précision diagnostique PD pour le diagnostic de cirrhose du rapport ASAT/ALAT $>$ 1 sauf en cas d'hépatopathie alcoolique [24-29]. La PD de ce rapport est augmentée si on y ajoute les plaquettes $<$ 130 ou 150 G/l [25, 26].

La diminution des plaquettes est un bon marqueur d'hypertension portale. Le taux de plaquettes $<$ 200 G/l associé à une ferritinémie $>$ 1 000 μ g/l et des ASAT $>$ normale a une PD pour le diagnostic de cirrhose de 82 % chez les patients porteurs d'une hémochromatose génétique [30].

Le taux de prothrombine (TP) est un bon marqueur de fibrose hépatique plus que d'insuffisance hépatique au cours des hépatopathies chroniques [31]. Le taux de prothrombine a une bonne performance diagnostique de cirrhose (86 %) pour une valeur seuil de 80 % à la fois chez les patients alcooliques et chez les patients atteints d'hépatites chroniques virales C [15]. Dans ces deux études, la PD pour le diagnostic d'une fibrose significative \geq F2 était de 70 à 89 % pour un TP $<$ 97 % pour les hépatopathies alcooliques et virales [15, 31]. Une PD de 89 % pour le diagnostic de fibrose extensive ou de cirrhose a été notée pour un TP $<$ 85 % chez des patients alcooliques [32]. Le taux de prothrombine est donc un marqueur de fibrose sévère ou de cirrhose, reproductible, peu onéreux et facilement accessible en pratique clinique [31].

LES MARQUEURS DIRECTS DE
LA MATRICE EXTRACELLULAIRE

De nombreux marqueurs sanguins ou urinaires dérivés des composants de la matrice extracellulaire ou des cytokines impliquées dans la fibrose ont été proposés comme marqueurs de fibrose. Ces marqueurs reflètent idéalement soit la fibrogenèse soit la fibrolyse.

Par exemple, l'augmentation du propeptide N-terminal du procollagène de type III (PIIINP), du TIMP1, du TGF β et de l'YKL-40 reflète une fibrogenèse active quel que soit le stade de l'hépatopathie. Le taux de collagène de type I traduit la quantité de collagène déposée dans le foie, tandis que les collagènes de type IV, VI et XIV, le fragment P1 de la laminine, la tenascine et l'acide hyaluronique reflètent le turnover des lames basales et montrent une bonne corrélation avec l'hypertension portale. Le collagène de type VI et l'unduline sont associés à la fibrolyse et au remodelage du tissu conjonctif interstitiel. Le dosage des MMP2 et MMP9 reflète aussi la fibrolyse.

L'avantage de ces composants de la matrice extracellulaire serait aussi de refléter certaines lésions histologiques telles que la nécrose et l'inflammation pour le PIIINP, la fibrose périsinusoidale pour le collagène de type IV ou son fragment 7S, la laminine et l'acide hyaluronique, ou la fibrose septale avec le collagène de type I.

En fait, l'intérêt de ces marqueurs est limité par le fait qu'aucun n'est spécifique du foie, le taux de ces marqueurs est influencé par des modifications de leur métabolisme, de leur clairance et de leur excrétion. Ainsi, le taux d'acide hyaluronique dépend de son excrétion par le foie et le rein et dépend de sa liaison avec un récepteur spécifique des cellules endothéliales hépatiques. Ce taux est aussi augmenté en post prandial [33].

Au total, seuls quelques marqueurs possèdent un intérêt en clinique, les autres manquant de spécificité.

L'acide hyaluronique est considéré comme le marqueur direct le plus fiable au cours des hépatopathies chroniques. Il est produit par les cellules stellaires du foie, entre dans la composition de la matrice extracellulaire du foie et

est éliminé de la circulation par les cellules endothéliales du foie. L'augmentation de son taux sérique est liée d'une part, à une augmentation de synthèse par les myofibroblastes activés et d'autre part, à une diminution de son élimination hépatique due à des phénomènes de capillarisation des sinusoides hépatiques. Le dosage de l'acide hyaluronique se faisait par méthode radio-immunologique et actuellement, par une méthode ELISA. Plusieurs études ont montré une bonne corrélation entre la concentration sérique d'acide hyaluronique et les scores histologiques de fibrose au cours des hépatopathies chroniques quelle que soit l'étiologie [22, 34-43]. Sa PD pour le diagnostic de cirrhose est de 86 % ce qui est supérieur aux autres marqueurs directs de fibrose [15]. Son intérêt est surtout de permettre d'exclure une cirrhose ou une fibrose extensive quand le taux est < 60 $\mu\text{g/l}$ avec une performance diagnostique de 99 % et 93 % respectivement [42]. Pour le suivi longitudinal des patients, l'utilité de l'acide hyaluronique pour apprécier les modifications histologiques sous traitement antiviral semble limitée [44, 45]. Par contre, au cours de la cirrhose constituée, le taux d'acide hyaluronique semble être le meilleur marqueur pronostique de la survenue de complications [46]. Chez les cirroses biliaires primitives traitées par acide ursodésoxycholique le taux d'acide hyaluronique était le seul marqueur sérique d'un mauvais pronostic [47].

Le PIIINP est aussi un bon marqueur de fibrose. Libéré en quantité équimolaire au collagène III, sa concentration circulante traduit la synthèse du procollagène par les tissus et reflète la fibrogenèse. Sa concentration semble corrélée à la fibrogenèse hépatique quelle que soit l'étiologie alcoolique, virale ou auto-immune. Le PIIINP est surtout élevé en cas de lésions hépatiques actives notamment lors des lésions nécrotico-inflammatoires des hépatites virales ou alcooliques. Il peut être considéré comme un bon marqueur de fibrinogenèse en raison de la relation physiopathologique étroite entre activité et fibrinogenèse. Cependant, pour le diagnostic de cirrhose, sa performance diagnos-

tique est le plus souvent un peu inférieure à celle de l'acide hyaluronique [15, 34-37, 48, 49].

La laminine, le collagène de type IV ou son fragment 7S sont des composants des membranes basales et s'accumulent précocement dans l'espace périsinusoidal dans les hépatopathies chroniques notamment alcooliques et virales. Il existe une corrélation entre ces marqueurs et le score histologique de fibrose. Cependant, leur performance diagnostique pour la cirrhose est variable en fonction des études et pas supérieure à celle de l'acide hyaluronique [15, 50-53].

Le YKL-40 est une glycoprotéine qui est un facteur de croissance pour les fibroblastes et les cellules endothéliales. Des études faites chez les hépatopathies alcooliques montrent une corrélation entre le taux d'YKL-40 le degré de fibrose et l'inflammation [54]. Cependant, une autre étude montre une faible valeur discriminante pour le diagnostic de cirrhose [55].

Les métalloprotéases matricielles (MMP) et leurs inhibiteurs tissulaires spécifiques (TIMPs) sont des protéines qui interviennent dans le remodelage de la matrice. Les études sur les performances diagnostiques de ces marqueurs sont variables. Une étude montre une bonne performance diagnostique de cirrhose pour le TIMP-1 et le proMMP-2 comparable à celle de l'acide hyaluronique [40]. Cependant, seul le TIMP-1 a une valeur diagnostique pour dépister la fibrose débutante. Le MMP-1 semble lui, inversement corrélé à l'activité inflammatoire et peut avoir un intérêt soit isolement soit en association avec le TIMP-1 ou le PIIINP [56, 48].

L'étude des cytokines impliquées dans la fibrogenèse montre que le TGF β est corrélé à la fibrose hépatique mais sa performance diagnostique est plus faible que l'acide hyaluronique [15, 57]. Par contre, sa diminution est corrélée à la réponse au traitement par interféron de l'hépatite C [58]. Parmi les molécules d'adhésion, VCAM-1 est aussi corrélé à la fibrose [59].

LES SCORES DE FIBROSE

Les scores de fibrose, calculés à partir d'algorithmes utilisant plusieurs para-

mètres directs ou indirects de fibrose déterminés simultanément, ont été développés pour estimer la fibrose hépatique afin d'améliorer les performances diagnostiques des tests qui, pris individuellement, ont une valeur diagnostique insuffisante.

Les premiers scores ont été rapportés chez les patients alcooliques. Le score PGA, testé et validé sur 624 patients buveurs excessifs, qui associe le TP, la gamma-glutamyl-transférase (GGT) et l'apolipoprotéine A1, permet d'affirmer le diagnostic de cirrhose dans 86 % des cas si le score (qui va de 0 à 12) est > 9 [60]. L'association de ce score PGA avec le dosage du PIIINP améliore encore

les performances notamment dans le sous groupe des patients ayant à la fois une cirrhose et une hépatite [49]. Enfin, ce score a été amélioré par l'addition du dosage de l'alpha 2 macroglobuline réalisant le score PGAA, testé et validé sur 841 patients, qui permet d'affirmer la cirrhose si le score (qui va de 0 à 16) est > 7 avec une sensibilité de 89 % et une spécificité de 79 % [61].

Oberti *et al.* ont montré qu'un score associant le TP, l'acide hyaluronique et l'alpha 2 macroglobuline, permet de déterminer un stade de fibrose cliniquement significative (Metavir ≥ F2) avec une performance diagnostique de 83 % dans les hépatites virales et de

87 % dans les hépatites alcooliques [15, 62].

Un certain nombre de scores ont été proposés pour le diagnostic de cirrhose chez les patients atteints d'hépatite chronique C (Tableau I). Ces scores qui reposent sur des critères faciles à déterminer (TP, INR, ASAT, ALAT, albumine, gammaglobuline, angiomes stellaires) ont une bonne spécificité proche de 100 % mais une très faible sensibilité, ce qui limite leur utilité en pratique clinique [63-66].

Un certain nombre de scores ont été proposés pour le diagnostic d'une fibrose significative dans les maladies chroniques du foie (Tableau II).

TABLEAU I
DIAGNOSTIC DE CIRRHOSE PAR LES SCORES SANGUINS AU COURS DE L'HEPATITE CHRONIQUE C

Auteurs	Année	Variables	Critère	Indice
Bonacini <i>et al.</i> [63] Saadeh <i>et al.</i> [64]	1997 2001	INR, ALAT/ASAT, plaquettes Score de 0 à 11	Score > 7 : F4 Score < 3 : Pas F4	Spécificité 100 % sensibilité 15 % Spécificité 58 % sensibilité 85 % 75 % des patients score entre 3 et 7
Kaul <i>et al.</i> [65]	2002	Plaquettes < 140G/l, angiome stellaire, ASAT > N, sexe	Tous présent : F4 Tous négatif :	Probabilité F4 : 99 % Probabilité F4 : 0,03 % F, 1,8 % H 48 % population
Luo <i>et al.</i> [66]	2002	Plaquettes < 140 G/l, glob/alb ≥ 1, ASAT/ALAT ≥ 1	Plaq + glob/alb ASAT/ALAT + glob/alb	Spécificité 100 % sensibilité 23 % Spécificité 100 % sensibilité 39 %

Glob : globuline, Alb : albumine, H : homme, F : femme

TABLEAU II
DIAGNOSTIC D'UNE FIBROSE SIGNIFICATIVE DANS LES MALADIES CHRONIQUES DU FOIE

Auteurs	Année	Maladie	Variables	Critère	Indice
Imbert-Bismut <i>et al.</i> [68] Fibrotest Autres études [69 78 76]	2001 2003-2004	VHC VHB, SHNA, Alcool	Age, sexe, Bilirubine T, Alpha2 macroglobuline, Haptoglobine, Apolipoprotéine A1, GGT	F ≥ 2 (METAVIR)	AUROC : 0,82-0,88 AUROC : 0,78 (VHB) AUROC : 0,83 (Alcool)
Forns <i>et al.</i> [82]	2002	VHC	Score = 7,811-3,131 log (plaq) + 0,781 log (GGT) + 3,467 log (âge) - 0,014 (cholestérol)	< 4,2 : F0F1 (Scheuer) > 6,9 : F2-F4	VPN : 96 % Chez 36 à 39 % pts VPP : 66 %
Wai <i>et al.</i> [84] APRI	2003	VHC	ASAT (/LSN) / plaquettes	< 0,50 : F0-F2 (Ishak) ≥ 2 : F5F6	VPN : 90 % AUROC : 0,82 VPP : 65 %
Patel <i>et al.</i> (86) FIBROSpect II	2004	VHC	Acide hyaluronique, TIMP-1, Alpha 2 macroglobuline	≥ 0,36 : ≥ F2 (METAVIR)	VPN : 74 % PD : 75 % VPP : 76 % AUROC : 0,83
Leroy <i>et al.</i> [48]	2004	VHC	Score = 0,5903 log(PIIINP) - 0,1749 log (MMP-1)	F ≥ 2 (METAVIR)	AUROC : 0,82 Se : 60 %, Sp : 92 %
Rosenberg <i>et al.</i> [87] ELF group	2004	VHC Alcool, SHNA	Age, acide hyaluronique, PIIINP, TIMP-1	F ≥ 2 (Scheuer, Ishak)	AUROC : 0,78 Se : 90 %, Sp : 30 % VPN (F < 2) : 92 %

SHNA : stéato-hépatite non alcoolique, VPN : valeur prédictive négative, VPP : valeur prédictive positive, Se : sensibilité, Sp : spécificité, AUROC : aire sous la courbe ROC, pts : patients.

Poynard et coll. ont testé et validé sur une cohorte de 620 patients atteints d'hépatite C, un score simple (0 à 10) reposant sur l'âge et les plaquettes. Un score ≥ 6 permet d'identifier les patients ayant une maladie active (lésions nécro inflammatoires sévères et/ou fibrose septale ou cirrhose) avec une spécificité de 93 % et une sensibilité de 52 %. Cependant, la valeur prédictive négative n'était pas suffisamment élevée pour éviter une biopsie hépatique quand le score était < 6 ce qui là encore limite son utilité en pratique clinique [67].

Le Fibrotest est sans doute le score qui a été le plus étudié. Ce score calculé et breveté à partir de 5 paramètres (haptoglobine, apolipoprotéine A1, bilirubine, GGT, alpha 2 macroglobuline) avec ajustement selon l'âge et le sexe a été testé et validé sur population de 339 patients atteints d'hépatite chronique C [68]. La précision diagnostique appréciée par l'aire sous la courbe ROC (AUROC) pour la détection d'une fibrose significative (METAVIR \geq F2) est de 0,82 à 0,88 dans les deux cohortes étudiées. En utilisant deux valeurs seuils de ce test qui va de 0 à 1 ($\leq 0,1$ et $\geq 0,6$) pour la détection d'une fibrose significative, la valeur prédictive négative est de 100 % et la valeur prédictive positive de 90 % et ce, sur 46 % de la population étudiée. Par la suite, les auteurs du Fibrotest ont développé un Actitest qui inclut un 6^e paramètre, l'ALAT, qui reflète l'activité nécrotico-inflammatoire. Le Fibrotest a fait l'objet d'une validation interne chez 537 patients puis chez 1570 malades avec hépatite chronique C comparés à 300 témoins [11, 69]. A partir de ces données, les auteurs ont déterminé que pour une valeur seuil du Fibrotest de 0,31, la valeur prédictive négative pour exclure une fibrose significative (\geq F2) est de 91 %, et pour une valeur seuil de l'Actitest de 0,36, la valeur prédictive négative pour exclure une nécrose significative est de 85 % [69]. Par ailleurs, pour une utilisation plus pratique de ce score linéaire de 0 à 1, les auteurs ont construit des tables de conversion entre le score Fibrotest-Actitest et les scores METAVIR d'évaluation de la fibrose et de l'activité [69]. Deux études indé-

pendantes ont étudié le Fibrotest. Dans la première étude sur 125 patients, la précision diagnostique appréciée par l'aire sous la courbe ROC (AUROC) pour la détection d'une fibrose significative (METAVIR \geq F2) est de 0,74 différente de l'étude initiale. La PBH aurait pu être évitée chez 46 % des patients mais des résultats discordants sont notés chez 19 % de ces patients. En utilisant les valeurs seuils ($\leq 0,1$ et $\geq 0,6$) la valeur prédictive négative et positive est de 85 % et 78 % respectivement. Cette étude ne valide pas le Fibrotest. La différence de résultats dans cette étude peut s'expliquer par l'utilisation de techniques de dosage différentes posant le problème de la standardisation des automates et des techniques et l'absence de donnée sur la qualité des PBH [70]. Dans la deuxième étude portant sur 504 patients atteints d'hépatite C, la précision diagnostique appréciée par l'aire sous la courbe ROC (AUROC) pour la détection d'une fibrose significative (METAVIR \geq F2) est de 0,79, non différente de l'étude initiale. En utilisant les mêmes valeurs seuils ($\leq 0,1$ et $\geq 0,6$) la PBH aurait pu être évitée chez 41 % des patients et des résultats discordants sont notés chez 14 % des patients. La valeur prédictive négative et positive est de 91 % et 80 % respectivement [71]. Cette étude valide le Fibrotest, bien que les performances diagnostiques pour les valeurs seuils soient moins bonnes que dans l'étude initiale.

La variabilité inter laboratoire du Fibrotest est bonne sous réserve d'une standardisation des méthodes [72, 73]. Deux études rétrospectives ont validé le Fibrotest pour le suivi longitudinal des patients traités [74, 75]. Enfin, le Fibrotest a été validé par ces auteurs chez les patients atteints d'hépatite B, chez les patients co-infectés par le VIH, chez les buveurs excessifs et dans la stéato-hépatite non alcoolique [76-79]. Dans l'hépatite chronique C, le génotype du virus n'a pas d'influence sur le Fibrotest [69]. Le Fibrotest est supérieur aux autres tests dans les études conduites par les auteurs [80, 81].

Forms et coll. ont testé et validé sur une population de 476 patients atteints d'hépatite C, un score associant l'âge, les plaquettes, la GGT et le cholestérol.

Les auteurs ont identifié deux valeurs seuils $< 4,2$ et $> 6,9$ permettant de définir les patients ayant une forte ou une faible probabilité d'avoir une fibrose significative (Scheuer \geq F2). Sur la cohorte de validation, seuls 51 % des patients sont classés en utilisant les deux valeurs seuils. La valeur inférieure $< 4,2$ a une valeur prédictive négative de 96 % alors que la valeur supérieure $> 6,9$ a une valeur prédictive positive de 66 % [82]. Ainsi, ce score est utile pour exclure les patients ayant une fibrose minimale mais a moins d'intérêt pour identifier les patients ayant une fibrose sévère. Dans une étude récente, ce score semble reproductible mais moins sensible que le Fibrotest [83]. Les limites de ce score résident dans l'absence de description des méthodes de dosages des différents paramètres, de l'impact possible des dyslipidémies et des médicaments susceptibles de modifier le cholestérol et enfin, de la reproductibilité du dosage des plaquettes.

Wai et coll. ont testé et validé sur une population de 270 patients atteints d'hépatite C, un score simple reposant sur les ASAT et les plaquettes. Le score APRI est égal à ASAT (/LSN) \times 100/plaquettes (109/l). L'aire sous la courbe ROC (AUROC) pour la détection d'une fibrose significative (Ishak \geq F3) ou d'une cirrhose (Ishak \geq F5) est de 0,88 et 0,94 respectivement. Les auteurs ont déterminé des valeurs seuils pour la fibrose significative ($< 0,50$ et $\geq 1,50$) et pour la cirrhose (≤ 1 et ≥ 2). En utilisant ces valeurs seuils, les patients avec ou sans fibrose significative ou cirrhose peuvent être déterminés avec une valeur prédictive négative de 90 et 100 % respectivement et une valeur prédictive positive de 91 % et 65 % respectivement dans la cohorte de validation. En utilisant ces valeurs seuils, il est donc possible de caractériser 51 % et 81 % des patients de la cohorte avec ou sans fibrose significative ou cirrhose [84]. Les limites de ce test APRI résident d'une part dans l'utilisation des ASAT exprimées en multiple de la limite supérieure de la normale ce qui pose un problème de définition et de reproductibilité, et d'autre part, sur la reproductibilité du dosage des plaquettes. Dans des études indépendantes

de validation le score APRI a une excellente spécificité mais une faible sensibilité et la performance diagnostique est moins bonne que celle du fibrotest [81, 85].

Dans l'année 2004, trois nouveaux scores utilisant des marqueurs directs de fibrose ont été publiés [48, 86, 87]. Le score de Grenoble testé sur 194 patients atteints d'hépatite C repose sur un marqueur de fibrogenèse le PIIINP et un marqueur de fibrolyse le MMP-1. Le score qui va de 0 à 0,8 permet de différencier l'absence de fibrose (F0, F1) d'une fibrose significative (\geq F2) avec une AUROC de 0,82 et une sensibilité de 60 % et une spécificité de 92 % [48]. Ce score intéressant et simple mérite d'être validé sur d'autres cohortes. Le score de Patel et coll. testé et validé sur une population de 696 patients a été breveté (FIBROSpect II). Ce score qui va de 0 à 1 associe l'acide hyaluronique, Le TIMP-1 et l'alpha 2 macroglobuline. Pour une valeur seuil de 0,36, ce score permet de différencier l'absence de fibrose (F0, F1 en METAVIR) d'une fibrose significative avec une performance diagnostique de 75 %. Par contre, une analyse de la fibrose stade par stade n'est pas possible [86, 88]. Le score de « l'European Liver Fibrosis Group » (ELF), établi sur une cohorte de 1021 patients a permis de constituer un score associant l'âge, l'acide hyaluronique, le PIIINP et le TIMP-1. Ce score a été établi en utilisant les scores semi quantitatifs de Scheuer et d'Ishak. Ce score qui est complexe à déterminer permet de détecter une fibrose significative avec une bonne sensibilité 90 % mais une faible spécificité et a une bonne performance diagnostique pour détecter l'absence de fibrose (VPN 92 %). Ce score a été déterminé chez les patients atteints d'hépatite chronique C, d'hépatopathie alcoolique et de stéato-hépatites non alcooliques [87].

Un nouveau score, le SNIFF II, devrait prochainement être publié. Chez 478 patients porteurs d'hépatite C ou buveurs excessifs, ce score, utilisant 7 variables, a une performance diagnostique reflétée par l'AUROC, pour le diagnostic d'une fibrose significative supérieure à celle du Fibrotest (0,90 vs 0,86) [62].

Récemment, un score basé sur le profil partiel des résidus glucidiques des glycoprotéines a été publié [89]. Ce score permet un diagnostic de cirrhose avec une AUROC à 0,87. Associé au Fibrotest, il permet le diagnostic de cirrhose avec une spécificité de 100 % et une sensibilité de 75 %.

L'utilité d'associer les scores ou les marqueurs chez un même patient a été évaluée dans plusieurs études présentées récemment [85, 90]. L'association Fibroscan et Fibrotest améliore la performance diagnostique par rapport à chacun des tests pris isolément [90]. Pour les scores de fibrose, le bénéfice de l'association semble modeste mais reste à être précisé sur de grandes études [85].

« Limites » des marqueurs non invasifs de fibrose

Les méthodes d'imagerie ont comme seule limite le morphotype des patients. Environ 6 % des patients ne peuvent être explorés par ces méthodes [14, 15, 18].

La principale limite des marqueurs sériques de fibrose réside dans la standardisation des méthodes de dosage qui nécessite l'utilisation des mêmes réactifs, si possible des mêmes automates, un calibre commun systématique et un contrôle de qualité. Ceci est particulièrement important pour le

dosage des protéines par immunonéphélométrie ou immunoturbidimétrie et la mesure des activités enzymatiques (ASAT, ALAT, GGT) à 37 °C avec une calibration [91, 92]. Cette standardisation reste actuellement un problème non résolu dans un contexte où les laboratoires disposent d'un parc d'analyseurs, hétérogène. Toutefois, des recommandations internationales existent pour permettre cette standardisation actuellement non réalisée.

Une autre limite des marqueurs sériques de fibrose, notamment pour les protéines ou les cytokines de la matrice extracellulaire, est la facilité et la reproductibilité des méthodes de dosage qui sont nécessaires pour la diffusion la plus large des tests ou scores proposés.

Des modifications physiologiques ou pathologiques peuvent être à l'origine de variation des concentrations sériques des marqueurs de fibrose (Tableau III). Sur le plan physiologique, le repas augmente la concentration sérique de l'acide hyaluronique, mais ne modifie pas de façon significative les variables incluses dans le Fibrotest [33, 93]. La concentration sérique de PIIINP est augmentée au cours des polyarthrites, de la sclérodermie, de la maladie de Paget et des fibroses pulmonaires. La concentration sérique d'acide hyaluronique est augmentée au cours des maladies inflammatoires articu-

TABLEAU III
CAUSES DE MODIFICATION PHYSIOLOGIQUE ET PATHOLOGIQUE
DES MARQUEURS SÉRIQUES DE FIBROSE

Marqueurs sériques	Augmentation	Diminution
PIIINP	Polyarthrite, Sclérodermie, Maladie de Paget, Fibrose pulmonaire	
Acide hyaluronique	Période post prandiale Maladie inflammatoire articulaire Mésothéliome Intoxication paracétamol Injection Collagène	
Bilirubine	Maladie de Gilbert, Hémolyse Cholestase extra hépatique ou médicaments	
Haptoglobine	Sd inflammatoire, sepsis	hémolyse
Alpha2 macroglobuline	Sd inflammatoire	
GGT	Cholestase extra hépatique, médicaments	
ALAT /ASAT	Hépatite aiguë	

lares, des mésothéliomes et après injections sous cutanée de collagène. L'acide hyaluronique est un bon marqueur des lésions endothéliales. Ainsi, au cours des épisodes d'ischémie reperfusion ou au cours des intoxications au paracétamol, sa concentration sérique augmente. Pour le Fibrotest, une hémolyse (entraînant une diminution de l'haptoglobine), un syndrome inflammatoire ou un sepsis (entraînant une augmentation de l'haptoglobine ou de l'alpha 2 macroglobuline), un syndrome de Gilbert (entraînant une augmentation de la bilirubine totale), une hépatite aiguë, et une cholestase médicamenteuse ou extra hépatique rendent le Fibrotest inutilisable [11]. Quand ces pathologies sont identifiées, il ne faut pas réaliser de Fibrotest. Pour le test de Forms et coll., l'impact possible des dyslipidémies et des médicaments susceptibles de modifier le cholestérol doit être pris en considération. Enfin, pour les autres tests, toutes les modifications pathologiques susceptibles de modifier les concentrations sériques d'acide hyaluronique et de PIIINP doivent être prises en compte.

Conclusion

Nous avons aujourd'hui à notre disposition pour évaluer la fibrose, des méthodes d'imagerie comme l'élastographie ultrasonore impulsionnelle, de nombreux marqueurs sériques et des scores de fibrose. Actuellement, aucun marqueur isolé ou aucun score de fibrose n'a de performance diagnostique suffisante pour évaluer seul le stade de fibrose en toute circonstance. Il n'en demeure pas moins que ces méthodes, ces marqueurs ou ces scores sont un complément et une alternative très intéressante et plus reproductible que la ponction biopsie hépatique. Il est important de considérer les marqueurs et les scores de façon analytique et non globale, en tenant compte des situations pathologiques susceptibles de les modifier, et en s'assurant de la standardisation des méthodes de dosage utilisées. Sous réserve de ces remarques, l'élastographie ultrasonore impulsionnelle, l'acide hyaluronique,

le Fibrotest sont actuellement les méthodes les plus validées, notamment pour exclure une fibrose significative avec une probabilité égale et sans doute supérieure à la PBH. D'autre part, certains de ces marqueurs semblent avoir un intérêt pour le suivi longitudinal des patients traités ou non. De nouveaux scores prometteurs viennent d'être publiés (score de Grenoble, ou score de ELF) d'autre sont à venir (SNIFF-II). L'avenir repose sur la comparaison et la validation de ces scores après standardisation des méthodes de dosage dans les laboratoires et sur la mise au point de marqueurs sans doute génétiques de la fibrogenèse qui nous permettront de différencier les patients à faible ou fort potentiel évolutif en terme de fibrose.

RÉFÉRENCES

- Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 351-72.
- Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis in integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-50.
- Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 373-84.
- Bedossa P, Poynard T, group TMcs. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996; 24: 289-93.
- Cadranel JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: Results of a prospective nationwide Survey. *Hepatology* 2000; 32: 477-81.
- Bonny C, Rayssiguier R, Ughetto S, et al. [Medical practices and expectations of general practitioners in relation to hepatitis C virus infection in the Auvergne region]. *Gastroenterol Clin Biol* 2003; 27: 1021-5.
- Abdi W, Millan JC, Mezey E. Sampling variability on percutaneous liver biopsy. *Arch Intern Med* 1979; 139: 667-9.
- Poniachik J, Bernstein DE, Reddy KR, et al. The role of laparoscopy in the diagnosis of cirrhosis. *Gastrointest Endosc* 1996; 43: 568-71.
- 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: 2614-8.
- Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 1449-57.
- 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: 1344-55. Epub 2004 Jun 10.
- Koukoulis GK, Koso-Thomas AK, Zardi L, et al. Enhanced tenascin expression correlates with inflammation in primary sclerosing cholangitis. *Pathol Res Pract* 1999; 195: 727-31.
- Koukoulis GK, Shen J, Virtanen I, Gould VE. Vitronectin in the cirrhotic liver: an immunomarker of mature fibrosis. *Hum Pathol* 2001; 32: 1356-62.
- Aube C, Oberti F, Korali N, et al. Ultrasonographic diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *J Hepatol* 1999; 30: 472-8.
- Oberti F, Valsesia E, Pilette C, et al. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology* 1997; 113: 1609-16.
- Aube C, Winkfield B, Oberti F, et al. New Doppler ultrasound signs improve the non-invasive diagnosis of cirrhosis or severe liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 743-51.
- Aube C, Racineux PX, Lebigot J, et al. [Diagnosis and quantification of hepatic fibrosis with diffusion weighted MR imaging: preliminary results]. *J Radiol* 2004; 85: 301-6.
- Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-13.
- 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: 48-54.
- Afdhal NH, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1160-74.
- Assy N, Minuk GY. Serum aspartate but not alanine aminotransferase levels help to predict the histological features of chronic hepatitis C viral infections in adults. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1545-50.

22. Wong VS, Hughes V, Trull A, Wight DG, Petrik J, Alexander GJ. Serum hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 1998; 5: 187-92.
23. Pradat P, Alberti A, Poynard T, et al. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Hepatology* 2002; 36: 973-7.
24. Imperiale TF, Said AT, Cummings OW, Born LJ. Need for validation of clinical decision aids: use of the AST/ALT ratio in predicting cirrhosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2328-32.
25. Giannini E, Risso 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.
26. Pohl A, Behling C, Oliver D, Kilani M, Monson P, Hassanein T. Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 3142-6.
27. Park GJ, Lin BP, Ngu MC, Jones DB, Katelaris PH. Aspartate aminotransferase: alanine aminotransferase ratio in chronic hepatitis C infection: is it a useful predictor of cirrhosis? *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 386-90.
28. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-62.
29. 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.
30. Beaton M, Guyader D, Deugnier Y, Moirand R, Chakrabarti S, Adams P. Noninvasive prediction of cirrhosis in C282Y-linked hemochromatosis. *Hepatology* 2002; 36: 673-8.
31. 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.
32. Tran A, Hastier P, Barjoan EM, et al. Non invasive prediction of severe fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol* 2000; 24: 626-30.
33. Idobe Y, Murawaki Y, Ikuta Y, Koda M, Kawasaki H. Post-prandial serum hyaluronan concentration in patients with chronic liver disease. *Intern Med* 1998; 37: 568-75.
34. 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: 558-63.
35. Guechot J, Poupon RE, Giral P, Balkau B, Giboudeau J, Poupon R. Relationship between procollagen III amino-terminal propeptide and hyaluronan serum levels and histological fibrosis in primary biliary cirrhosis and chronic viral hepatitis C. *J Hepatol* 1994; 20: 388-93.
36. Nyberg A, Lindqvist U, Engstrom-Laurent A. Serum hyaluronan and aminoterminal propeptide of type III procollagen in primary biliary cirrhosis: relation to clinical symptoms, liver histopathology and outcome. *J Intern Med* 1992; 231: 485-91.
37. Ninomiya T, Yoon S, Hayashi Y, et al. Clinical significance of serum hyaluronan as a fibrosis marker in chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha: histological evaluation by a modified histological activity index scoring system. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 68-74.
38. Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, et al. Histopathological evaluation of liver fibrosis: quantitative image analysis vs semi-quantitative scores. Comparison with serum markers. *J Hepatol* 1998; 28: 439-46.
39. Yamada M, Fukuda Y, Koyama Y, et al. Serum hyaluronic acid reflects the effect of interferon treatment on hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11: 646-51.
40. Boeker KH, Haberkorn CI, Michels D, Flemming P, Manns MP, Lichtinghagen R. Diagnostic potential of circulating TIMP-1 and MMP-2 as markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chim Acta* 2002; 316: 71-81.
41. Plevris JN, Haydon GH, Simpson KJ, et al. Serum hyaluronan—a non-invasive test for diagnosing liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 1121-7.
42. 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: 945-51.
43. Guechot J, Loria A, Serfaty L, Giral P, Giboudeau J, Poupon R. Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C: effect of alpha-interferon therapy. *J Hepatol* 1995; 22: 22-6.
44. Patel K, Lajoie A, Heaton S, et al. Clinical use of hyaluronic acid as a predictor of fibrosis change in hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 253-7.
45. 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: 120-6.
46. Guechot J, Serfaty L, Bonnand AM, Chazouilleres O, Poupon RE, Poupon R. Prognostic value of serum hyaluronan in patients with compensated HCV cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 32: 447-52.
47. Poupon RE, Balkau B, Guechot J, Heintzmann F. Predictive factors in ursodeoxycholic acid-treated patients with primary biliary cirrhosis: role of serum markers of connective tissue. *Hepatology* 1994; 19: 635-40.
48. Leroy V, Monier F, Bottari S, et al. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 271-9.
49. Teare JP, Sherman D, Greenfield SM, et al. Comparison of serum procollagen III peptide concentrations and PGA index for assessment of hepatic fibrosis. *Lancet* 1993; 342: 895-8.
50. Murawaki Y, Ikuta Y, Koda M, Kawasaki H. Serum type III procollagen peptide, type IV collagen 7S domain, central triple-helix of type IV collagen and tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with chronic viral liver disease: relationship to liver histology. *Hepatology* 1994; 20: 780-7.
51. Yamada M, Fukuda Y, Nakano I, Katano Y, Takamatsu J, Hayakawa T. Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis in hemophiliacs with hepatitis C virus-associated chronic liver disease. *Acta Haematol* 1998; 99: 212-6.

52. Murawaki Y, Ikuta Y, Koda M, Nishimura Y, Kawasaki H. Clinical significance of serum hyaluronan in patients with chronic viral liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11: 459-65.
53. Zheng M, Cai WM, Weng HL, Liu RH. ROC curves in evaluation of serum fibrosis indices for hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 1073-6.
54. Johansen JS, Moller S, Price PA, et al. Plasma YKL-40: a new potential marker of fibrosis in patients with alcoholic cirrhosis? *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 582-90.
55. Tran A, Benzaken S, Saint-Paul MC, et al. Chondrex (YKL-40), a potential new serum fibrosis marker in patients with alcoholic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 989-93.
56. Murawaki Y, Ikuta Y, Idobe Y, Kawasaki H. Serum matrix metalloproteinase-1 in patients with chronic viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 138-45.
57. Nelson DR, Gonzalez-Peralta RP, Qian K, et al. Transforming growth factor-beta 1 in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 1997; 4: 29-35.
58. Neuman MG, Benhamou JP, Bourliere M, et al. Serum tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta levels in chronic hepatitis C patients are immunomodulated by therapy. *Cytokine* 2002; 17: 108-17.
59. Kaplanski G, Farnarier C, Payan MJ, Bongrand P, Durand JM. Increased levels of soluble adhesion molecules in the serum of patients with hepatitis C. Correlation with cytokine concentrations and liver inflammation and fibrosis. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 2277-84.
60. Poynard T, Aubert A, Bedossa P, et al. A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. *Gastroenterology* 1991; 100: 1397-402.
61. Naveau S, Poynard T, Benattar C, Bedossa P, Chaput JC. Alpha-2-macroglobulin and hepatic fibrosis. Diagnostic interest. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 2426-32.
62. Cales P, Oberti F, Hubert I, et al. Non-invasive evaluation of liver fibrosis by the blood SNIFF scores. *Hepatology* 2004; 40 (suppl 1):541A (abstract).
63. 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: 1302-4.
64. Saadeh S, Cammell G, Carey WD, Younossi Z, Barnes D, Easley K. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001; 33: 196-200.
65. 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: 2623-8.
66. Luo JC, Hwang SJ, Chang FY, et al. Simple blood tests can predict compensated liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 478-81.
67. Poynard T, Bedossa P, METAVIR, groups Ccs. Age and platelet count: a simple index for predicting the presence of histological lesions in patients with antibodies to hepatitis C virus. *J Viral Hepat* 1997; 4: 199-208.
68. 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: 1069-75.
69. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, et al. Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comp Hepatol* 2004; 3: 8.
70. Rossi E, Adams L, Prins A, et al. Validation of the FibroTest biochemical markers score in assessing liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clin Chem* 2003; 49: 450-4.
71. Halfon P, Bourliere M, Deydier R, et al. Independent prospective multicenter validation of biochemical markers (Fibrotest-Actitest) for the prediction of liver fibrosis and activity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38 (suppl1): 188A (abstract).
72. Halfon P, Imbert-Bismut F, Messous D, et al. A prospective assessment of the inter-laboratory variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) in patients with chronic liver disease. *Comp Hepatol* 2002; 1: 3.
73. Imbert-Bismut F, Messous D, Thibaut 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.
74. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu 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: 128-33.
75. 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: 481-92.
76. Myers RP, Tainturier MH, Ratziu V, et al. Prediction of liver histological lesions with biochemical markers in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2003; 39: 222-30.
77. Myers RP, Benhamou Y, Imbert-Bismut F, et al. Serum biochemical markers accurately predict liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus co-infected patients. *Aids* 2003; 17: 721-5.
78. Naveau S, Raynard B, Ratziu V, et al. Valeur diagnostique des marqueurs de fibrose (Fibrotest) pour l'évaluation de la fibrose hépatique dans la maladie alcoolique du foie. *Gastroenterol Clin Biol* 2003; 27: 763 (abstract).
79. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, et al. An overview of biochemical markers (Fibrotest-Actitest) diagnostic value in chronic liver disease: a non invasive alternative to liver biopsy. *Hepatology* 2003; 38 (suppl 1): 430A (abstract).
80. Myers RP, De Torres M, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Charlotte F, Poynard T. Biochemical markers of fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a comparison with prothrombin time, platelet count, and age-platelet index. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 146-53.
81. Le Calvez S, Thabut D, Messous D, et al. The predictive value of Fibrotest vs. APRI for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 862-3; author reply 863.
82. 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: 986-92.
83. Thabut D, Simon M, Myers RP, et al. Noninvasive prediction of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 37: 1220-1; author reply 1221.
84. 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: 518-26.

85. Sebastiani G, Vario A, Boccatto S, et al. Predictive value of three non invasive methods for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004; 40 (suppl 1): 280A (abstract).

86. 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: 935-42.

87. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004; 127: 1704-13.

88. Poordad FF. FIBROSpect II: a potential noninvasive test to assess hepatic fibrosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2004; 4: 593-7.

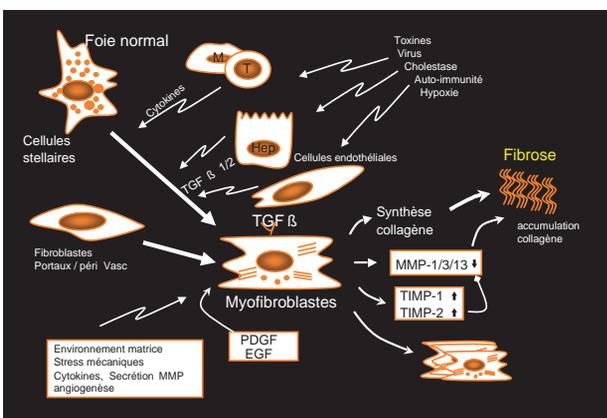
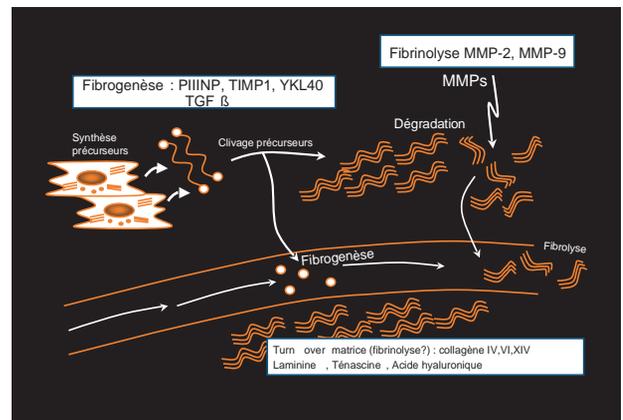
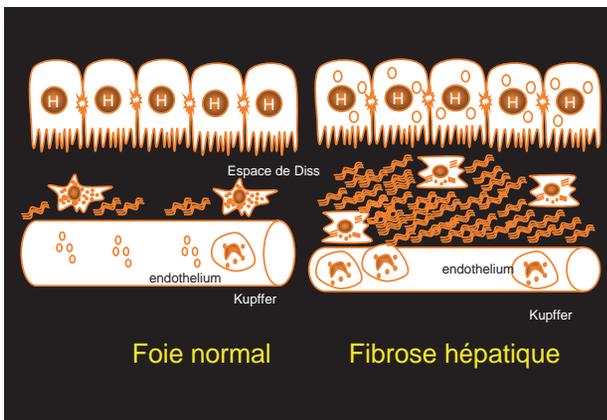
89. Callewaert N, Van Vlierberghe H, Van Hecke A, Laroy W, Delanghe J, Contreras R. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics. *Nat Med* 2004; 10: 429-34.

90. Castera L, Vergniol J, Foucher J, et al. Transient elastography (Fibroscan) a novel non-invasive sensitive method for the assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis C. A prospective evaluation in comparison with liver biopsy, Fibrotest and APRI. *Hepatology* 2004; 40 (suppl 1): 679A (abstract).

91. Lessinger JM, Schiele F, Vialle A, et al. [Enzyme calibrators: principle and practical use]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2002; 60: 281-6.

92. Ferard G, Imbert-Bismut F, Messous D, et al. [Influence of pyridoxal phosphate in measuring aminotransferases activities in patients with viral hepatitis]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2004; 62: 717-20.

93. Munteanu M, Messous D, Thabut D, et al. Intra-individual fasting versus postprandial variation of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest). *Comp Hepatol* 2004; 3: 3.

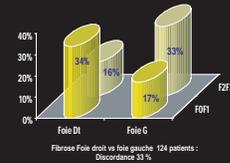
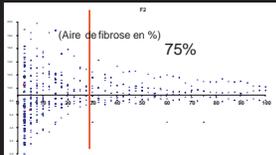


Ponction biopsie hépatique (PBH)

- Lésions hépatiques :
 - activité nécrotico-inflammatoire,
 - fibrose,
 - stéatose,
 - lésions biliaires, lésions vasculaires
- Scores de fibrose
 - (METAVIR, Knodell , Ishak,...)
- Geste invasif :
 - morbidité : 0,3 à 0,6%
 - mortalité : 0 à 0,05%
- Peu facilement renouvelable
- Couteux : 1000 euros
- «Vécu agressif»



Les limites de la biopsie hépatique



La taille de la biopsie doit être au minimum de 25 mm

Cohorte 537 patients : 14% PBH \geq 25 mm long

Etude rétrospectives 434 patients : Laparoscopie vs PBH			
	Laparoscopie	PBH	Erreur
Cirrhose	169	115	32%
Pas de cirrhose	265	283	0,8%
Détection de cirrhose : sensibilité de la PBH : 68%, spécificité : 0,8			

Bedossa P et al. Hepatology 2003; 38 : 1449-1457
Ponachk J et al. Gastrointest Endosc 1996;43: 568-571

Regev A, et al. Am J Gastroenterol 2002; 97: 2614-2618
Peyraud T et al. Clin Chem 2004; 50: 1344-1356

Elastométrie (FibroScan®)



Ponction biopsie hépatique (PBH)

- Dynamique du processus fibrosant :
 - étude immunohistochimique:
 - ténascine : fibrose précoce,
 - vitronectine: stade avancé



- 600.000 patients hépatite C : 16000 PBH /an dont 50% pour hépatite C chronique

Notion de marqueur idéal de fibrose hépatique

- Spécifique du foie ,
- Indépendant des anomalies métaboliques,
- Facile à réaliser,
- Corrélié au contenu matriciel,
- Assez sensible pour discriminer les différents stades de fibrose,
- Refléter la réponse aux traitements anti-fibrosants,
- Utilisable quelque soit l'étiologie de la maladie chronique du foie,
- Non influencé par des facteurs extra hépatiques.

Les techniques d'imagerie

- Echographie abdominale:
 - couplée au doppler VP VSH :
 - PD 89-92% cirrhose
- IRM de diffusion :
 - bonne PD pour cirrhose

Pas d'intérêt pour le diagnostic de fibrose débutante

Aube C et al. J Hepatol 1999; 30: 472-478.
Aube C et al. Eur J Gastroenterol Hepatol 2004; 16: 743-751
Aube C et al. J Radiol 2004; 85: 301-306

Marqueurs biologiques non invasifs de la fibrose du foie

- Marqueurs directs de fibrose :
 - Acide Hyaluronique
 - (PD 86% si $>$ 76 μ g/l pour F $>$ 3)
 - $<$ 60 μ g/l : PD exclure cirrhose ou fibrose extensive 99%, 93%
 - Procollagène type III (PIIINP): bon marqueur fibrogenèse
 - PD souvent inférieure à l'acide hyaluronique
 - Autres marqueurs : YKL-40, TIMP-1, TGF β , VCAM-1

Quantification de la fibrose hépatique par élastographie chez 327 VHC chroniques

Elastométrie impulsionnelle (FibroScan) : mesure, à l'aide d'ultrasons, de la propagation intrahépatique d'une vibration délivrée à la surface de la peau.

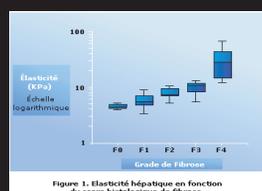


Figure 1. Elastocité hépatique en fonction du score histologique de fibrose.

AUC = 0,79 pour F \geq 2 PD 79%
AUC = 0,91 pour F \geq 3 PD 91%
AUC = 0,97 pour F=4 PD 97%

Elasticité $>$ 8,7 kPa Fibrose \geq F2
 $>$ 9,5 kPa Fibrose \geq F3
 $>$ 14,5 kPa Fibrose =F4

Sandrin L et al. Ultrasound Med Biol 2003; 29: 1705-1713
Ziol M et al. Hepatology 2005; 41: 48-54

Marqueurs biologiques non invasifs de la fibrose du foie

- Marqueurs indirects de fibrose :
 - Taux de prothrombine :
 - TP $<$ 85% PD 89% F $>$ 3,
 - TP $<$ 78% PD 83% F4
 - Plaquettes :
 - Bon marqueur d'HTP
 - Transaminases :
 - Transa $>$ N : VPP 99% F \geq 1

Scores de cirrhose

Auteurs	Année	Variables	Critère	Indice
Bonacini et al (43) Saadeh et al (44)	1997 2001	INR, ALAT/ASAT, plaquettes Score de 0 à 11	Score=7 : F4 Score < 3 : Pas F4	Spécificité 100% sensibilité 15% Spécificité 58% sensibilité 85% 75% des patients score entre 3 et 7
Kaul et al (45)	2002	Plaquettes<140G/l, angiotensinostérolase, ASAT >N, sexe	Tous présent : F4 Tous négatif :	Probabilité F4 : 99% Probabilité F4 : 0,03% F, 1,8% H 48% population
Luo et al (46)	2002	Plaquettes<140G/l, glob'Alb ≥ 1, ASAT/ALAT ≥ 1	Plaquettes < 140 G/l ASAT/ALAT < 1 glob'Alb	Spécificité 100% sensibilité 23% Spécificité 100% sensibilité 39%

Scores de fibrose significative

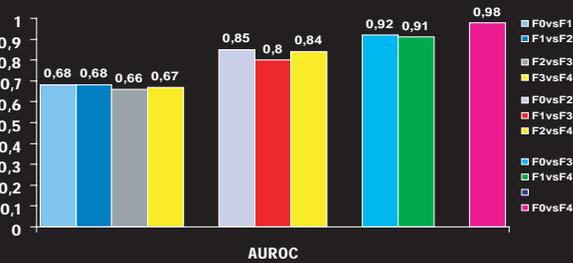
Auteurs	Année	Maladie	Variables	Critère	Indice
Imbert-Bismut Fibrotest Autre études	2001 2003-4	VHC VHB, SHNA, Alcool	Age, sexe, Bilirubine T, Alpha2 macroglobuline, Haptoglobine, Apolipoprotéine A1, GGT	F ≥ 2 (METAVIR)	AUROC : 0,82-0,88 AUROC : 0,78 (VHB) AUROC : 0,83 (Alcool)
Forns et al	2002	VHC	Score = 7,811-3,121 log (plaq) +0,781 log (GGT) +3,467 log (âge)-0,014(cholestérol)	< 4,2 : F0-F1 (Scheuer) > 6,9 : F2-F4	VPN : 98% Chez 36 à 39% pts VPP : 66%
Wai et al APRI	2003	VHC	ASAT (ULSN) / plaquettes	<0,50 : F0-F2 (Ishak) ≥ 2 : F3-F4	VPN : 90% AUROC : 0,82 VPP : 65%
Patel et al FIBROSpect II	2004	VHC	Acide hyaluronique, TIMP-1, Alpha 2 macroglobuline	≥ 0,36 : ≥ F2 (METAVIR)	VPN : 74% PD : 75% VPP : 76% AUROC : 0,83
Leroy et al	2004	VHC	Score = 0,5903 log (PIINP) - 0,1749 log (MMP-1)	F ≥ 2 (METAVIR)	AUROC : 0,82 Se : 60%, Sp : 92%
Rosenberg et al ELF group	2004	VHC Alcool, SHNA	Age, acide hyaluronique, PIINP, TIMP-1	F ≥ 2 (Scheuer, Ishak)	AUROC : 0,78 Se : 90%, Sp : 30% VPN (F ≥ 2) : 92%

Deux estimateurs biochimiques de l'état du foie

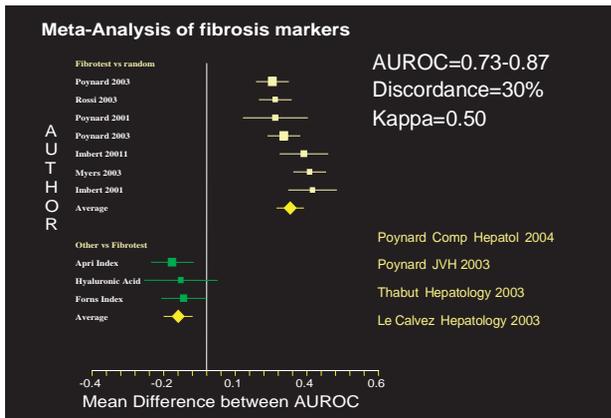
F0 pas de fibrose, F1 fibrose portale, F2 quelques septa, F3 nombreux septa, F4 Cirrhose
A0 pas d'activité, A1 activité minime, A2 modérée, A3 sévère

FibroTest	Estimation du Stade de Fibrose	ActiTest	Estimation du Grade d'Activité
0.75-1.00	F4		
0.73-0.74	F3-F4	0.64-1.00	A3
0.59-0.72	F3	0.61-0.63	A2-A3
0.49-0.58	F2	0.53-0.60	A2
0.32-0.48	F1-F2	0.37-0.52	A1-A2
0.28-0.31	F1	0.30-0.36	A1
0.22-0.27	F0-F1	0.18-0.29	A0-A1
0.00-0.26	F0	0.00-0.17	A0

Valeur Diagnostique du FibroTest : classe par classe

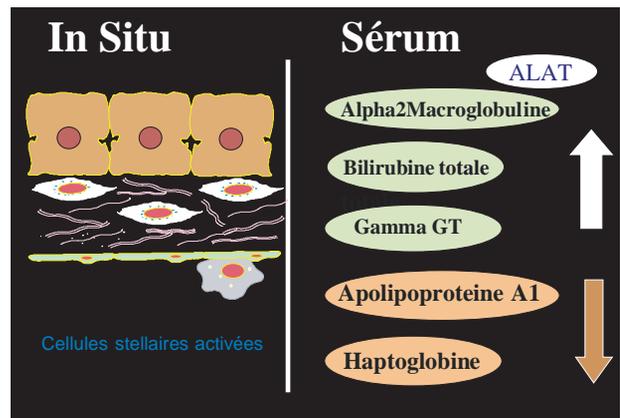
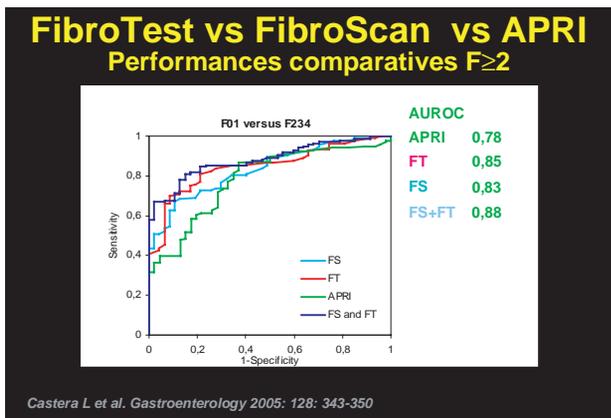


PACA n=504



Modifications physiologiques et pathologiques

Marqueurs sériques	Augmentation	Diminution
PIIINP	Polyarthrite, Sclérodémie, Maladie de Paget, Fibrose pulmonaire	
Acide hyaluronique	Période post prandiale, Maladie inflammatoire articulaire, Mésothéliome, Intoxication paracétamol, Injection Collagène	
Bilirubine	Maladie de Gilbert, Hémolyse, Cholestase extra hépatique ou médicaments	
Haptoglobine	Sd inflammatoire, sepsis	hémolyse
Alpha2 macroglobuline	Sd inflammatoire	
GGT	Cholestase extra hépatique, médicaments	
ALAT /ASAT	Hépatite aiguë	



Limites morphologiques

- Limites de l'élastométrie impulsionnelle :
 - Sujets obèses, ascite
 - 23/327 (7%) , 10/193 (5%)

Seuil d'élasticité

	F ≥ 2	F ≥ 3	F ≥ 4
Zioli M et al	> 8,7	> 9,5	> 14,5
Castera et al.	> 7,1	> 9,5	> 12,5

Zioli M et al. Hepatology 2005; 41: 48-54
 Castera L et al. Gastroenterology 2005; 128: 343-350

Conclusion

- Méthodes d'imagerie (élastométrie) marqueurs sériques et scores de fibrose
- Aucun marqueur isolé (y compris PBH) n'a de PD suffisante pour évaluer seul la fibrose en toute circonstance.
- Il faut considérer les marqueurs de façon analytique et non globale.
- Fibroscan, Fibrotest et Ac hyaluronique les mieux validés
- Nombreux score à venir
- Marqueurs génétique de fibrogenèse à venir

Limites des marqueurs sériques

- Standardisation des méthodes de dosage (ASAT, ALAT, GGT,)
 - Automates identiques
 - Réactifs identiques
 - Calibrateur commun systématique
 - Contrôle de qualité
- Reproductibilité des méthodes de dosage (protéines et cytokines MEC)