

Les marqueurs de fibrose

J. P. ZARSKI, Unité INSERM U 548,
C.H.U. de Grenoble

Tirés à part : Jean-Pierre Zarski – Département d'Hépatogastroentérologie – Unité
INSERM U 548, CHU de Grenoble, BP 217, 38043 Grenoble Cedex 9.

Introduction

L'examen anatomopathologique du foie reste actuellement l'examen de référence pour apprécier le degré et la distribution des principales lésions des hépatopathies et en particulier de la fibrose. L'importance de la fibrose est décrite en routine de façon qualitative, ou mieux par des scores semi-quantitatifs qui sont variables et difficilement reproductibles hormis peut-être l'item fibrose du score Métavir dans l'hépatite chronique virale C. Cependant, la ponction biopsie du foie reste un geste invasif qui comporte des risques (morbidité = 0,3%, mortalité = 0,03%) et qui ne peut donc être renouvelé facilement. D'autre part, sa fiabilité peut être prise en défaut [1] notamment pour le diagnostic de cirrhose dans environ 20 % des cas, ce taux de faux-négatifs étant lié accessoirement à l'observateur et principalement à l'échantillonnage car le fragment ne représente qu'environ 1/100000 de la masse du foie. On estime ainsi que la biopsie doit être au moins d'une taille de 10 mm et comporter un minimum de 6 espaces-portes pour être réellement lue. Enfin, la biopsie du foie peut être un obstacle à la prise en charge des hépatopathies, en particulier des hépatites chroniques virales. Une enquête récente réalisée par le Réseau Hépatite C d'Auvergne chez 1177 généralistes a en effet révélé qu'elle était refusée par 59 % des patients contaminés par le VHC et que 22% des médecins interrogés partageaient la même crainte. L'ensemble de ces remarques suggère qu'il est important de développer des marqueurs sériques de fibrose.

Les marqueurs sériques de fibrose

On distingue les marqueurs directs lorsqu'ils sont issus d'une des molécules impliquées dans la matrice extracellulaire constitutrice de la fibrose et les marqueurs indirects qui ne sont que des reflets de la fibrose visible.

Les marqueurs directs

De nombreux marqueurs sanguins directs dérivés de la matrice extracellulaire ont été proposés comme marqueurs de fibrose. Les plus étudiés ont été le propeptide N-terminal du procollagène de type III qui reflète les lésions histopathologiques de la nécrose et de l'inflammation, le collagène de type IV, la laminine et l'acide hyaluronique en liaison avec la fibrose péri-sinusoïdale, et le collagène de type I reflet de la fibrose septale.

L'ACIDE HYALURONIQUE

Plusieurs études [2-6] ont montré une bonne corrélation entre l'acide hyaluronique et les scores histologiques semi-quantitatifs au cours des hépatopathies virales ou alcooliques. Pour une valeur seuil de 100 à 110 µg/litre, sa sensibilité pour le diagnostic de cirrhose varie entre 79 et 86% et sa spécificité de 86 à 89 %. L'acide hyaluronique est accessible en pratique clinique par une méthode radio-immunologique.

LA LAMININE ET LE COLLAGÈNE DE TYPE IV

La laminine, le collagène de type IV ou son fragment 7S font partie des composants des membranes basales et s'accumulent précocement dans l'espace péri-sinusoïdal notamment dans la maladie alcoolique du foie. Leurs taux sériques sont élevés chez les malades cirrhotiques et il existe une corrélation entre ces marqueurs et les scores histopathologiques de fibrose. Cependant, la sensibilité et la spécificité de ces marqueurs pris individuellement semblent inférieures à celles de l'acide hyaluronique.

LE PROPEPTIDE N TERMINAL DU PROCOLLAGÈNE DE TYPE III

Le propeptide N-terminal du procollagène de type III (PIIINP) a été probablement un des marqueurs sériques les plus étudiés [2, 4-6]. Sa concentration sérique au cours des maladies du foie, qu'elle soit alcoolique, virale ou auto-immune, semble corrélée à la fibrogenèse hépatique. En effet, le PIIINP sérique est surtout élevé au cours des lésions hépatiques actives notamment lors des lésions nécrotico-inflammatoires, au cours des hépatopathies virales ou alcooliques. Sa sensibilité pour le diagnostic de cirrhose varie entre 58 et 94 % alors que sa spécificité se situe, selon les études et l'étiologie de l'hépatopathie, entre 58 et 95 %. Au total, le PIIINP peut être considéré comme un bon marqueur de fibrogenèse en raison de la relation physiopathologique étroite entre activité et fibrogenèse.

LES METALLOPROTEASES ET LEURS INHIBITEURS

Les métalloprotéases matricielles constituent une famille d'endopeptidase à zinc capables de dégrader le collagène. Leur activité est régulée par des inhibiteurs spécifiques des tissus (TIMPs), la balance entre les métalloprotéases et leurs inhibiteurs pouvant jouer un rôle probablement important dans le dépôt de la matrice extracellulaire et leur régulation [7, 8]. Nous avons récemment montré [9] dans un travail que parmi celles-ci, les TIMP I et II étaient significativement plus élevées chez les patients atteints d'hépatite chronique C alors que la MMP9 était plus basse. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative par rapport à un groupe contrôle pour les MMP 1 et MMP 2. Lorsque l'on regardait la balance entre les métalloprotéases et leurs inhibiteurs, le meilleur rapport était MMP9/TIMP I qui était significativement plus faible chez les patients atteints d'hépatite chronique virale C. TIMP I était significativement corrélé avec le stade de fibrose selon l'index Métavir alors qu'il existait une relation négative pour MMP 1 et MMP 9. En utilisant une courbe ROC, pour une valeur seuil de TIMP I à 1360 ng/ml, la sensibilité était de 75 % et la spécificité de 70 % avec une aire sous la courbe de 0,82. Nous avons montré également, en analyse multivariée que deux marqueurs étaient indépendamment associés au développement d'une fibrose modérée à sévère le PIIINP et la MMP 1. En combinant ces deux marqueurs, l'aire sous la courbe était de 0,82 avec pour un cut-off de 0,33, une sensibilité de 60 % et une spécificité de 92 %.

Les marqueurs indirects

Parmi les marqueurs sanguins indirects de fibrose hépatique évalués à ce jour, le taux de prothrombine (TP) a été bien étudié et a une bonne valeur prédictive de cirrhose proche de 86 % pour une valeur seuil de 80 % environ tant chez les malades alcooliques que chez les malades atteints d'hépatite chronique virale C [6, 10]. Cette performance semble peu influencée par d'autres variables histopathologiques telles l'hépatite alcoolique aiguë. Une valeur prédictive positive similaire de fibrose extensive et/ou de cirrhose a été récemment retrouvée (89%) dans une population de malades alcooliques pour une valeur seuil similaire du TP à 85 %. Ainsi, il apparaît que le TP exprimé sous forme de pourcentage est un marqueur de cirrhose ou de fibrose sévère reproductible et peu onéreux (5,4 Euros) et facilement accessible en pratique clinique. Dans un travail récent, Croquet *et al.* [10], ont de plus montré que le TP était davantage un marqueur de fibrose hépatique que d'insuffisance hépatique au cours des hépatopathies chroniques. Il a également été suggéré récemment la bonne valeur prédictive positive (99 %) de l'ALAT > N pour la fibrose hépatique (F > 1) au cours des hépatites chroniques virales C mais l'ALAT < N avait une valeur prédictive négative pour la fibrose hépatique $\geq F1 = 35 \%$ [11].

Les scores de fibrose

Des études récentes ont montré que la combinaison de plusieurs marqueurs sériques pouvait augmenter la performance diagnostique. Celui qui a été le plus décrit est le Fibrotest [12], qui est un index de fibrose comprenant 5 marqueurs. Le premier marqueur est l'alpha-2 macroglobuline, protéine de l'inflammation synthétisée par les hépatocytes et les cellules stellaires et dont la concentration sérique augmente avec la fibrose; elle inhibe les protéinases et peut augmenter la fibrose en inhibant le catabolisme des protéines de la matrice extracellulaire. Le second est l'haptoglobine qui est une protéine synthétisée par le foie et qui diminue donc en cas de fibrose. L'apolipoprotéine A1 est également synthétisée par le foie et sert à transporter le cholestérol; en cas de fibrose, sa libération est ralentie par le développement de la matrice extracellulaire. La bilirubine totale augmente en cas de fibrose hépatique également. Enfin, la gamma-glutamyl-transpeptidase ou GGT augmente également en cas de fibrose par un mécanisme qui reste inconnu. En combinant ces 5 marqueurs, il est possible de déterminer le stade de fibrose cliniquement significative (stade Métavir $\geq F2$) avec une performance diagnostique de 81%, la valeur prédictive négative étant de 100% pour un score allant de 0 à 0,10 et la valeur prédictive positive étant > 90% pour un score allant de 0,60 à 1. Toutefois, ces résultats n'ont pas été retrouvés par tous, Calès *et al.* [13] rapportant un pourcentage de mal classés de 27 % dans une population de référence. Ces auteurs ont même suggéré qu'un score à 3 variables (TP, acide hyaluronique et alpha-2 macroglobuline) avait une performance diagnostique de 78 % pour un stade Métavir $F \geq 2$. Ils ont eux-mêmes proposé un score non invasif de fibrose (SNIF) à 6 variables non encore connues qui permettrait une performance diagnostique d'environ 90 % pour un stade Métavir $F \geq 2$.

Un autre score a été récemment publié par Forns *et al.* [14], à l'aide d'une analyse multivariée isolant l'âge, la GGT, le cholestérol et les plaquettes. L'aire sous la courbe était de 0,86 pour le groupe estimé et de 0,81 pour le groupe validé ; en utilisant un seuil $<4,2$, la présence d'une fibrose significative (F2 à F4) pouvait être exclue avec une valeur prédictive négative de 96 % chez 36 % des malades. Seuls 2 patients étaient mal classés. Un 3^e score a également été proposé par Patel *et al.* [15], à l'aide, en analyse multivariée, de l'acide hyaluronique, l'alpha-2 macroglobuline, et TIMP I. Ce score a été testé dans 4 séries successives de malades; la valeur prédictive positive était de 91% et surtout la valeur prédictive négative de 77 % avec une performance diagnostique de 82 % lorsque la prévalence de la fibrose F2 – F4 était de 51,2 %. Lorsque la prévalence de la fibrose F2-F4 était de 30 %, la valeur prédictive positive était de 81 % et la valeur prédictive négative de 89 % avec une performance diagnostique de 87 %. Le pourcentage de patients indéterminés en utilisant ce modèle était de 28–30%. Enfin, les nouvelles méthodes d'approche par puce à protéine [16] à l'aide d'une technique de spectroscopie de masse ont permis d'isoler 14 protéines dont la nature n'est pas encore identifiée et dont un index formé de trois d'entre elles avait une aire sous la courbe pour le diagnostic de fibrose $\geq F2$ de 0,97. Cette voie d'approche pourrait être intéressante dans l'avenir.

Marqueurs de fibrose et suivi thérapeutique

Peu d'études ont étudié l'évolution des marqueurs de fibrose au cours, en particulier, des traitements antiviraux des hépatopathies. Il a toutefois été montré qu'il existait une diminution significative de l'acide hyaluronique et du PIIINP durant le traitement, surtout chez les malades ayant une réponse biochimique et virologique alors que cette diminution n'a été observée qu'exceptionnellement et de façon faible chez les malades non répondeurs. Dans un travail récent incluant un très grand nombre de malades, nous n'avons montré aucune différence significative par rapport à un groupe témoin de l'acide hyaluronique et du PIIINP [9]. Poynard *et al.* [17] ont également suivi l'évolution du Fibrotest dans une série de 78 patients recevant l'interféron à la posologie de 3 MUI 3 fois/semaine pendant 24 semaines, ainsi que chez 87 patients ayant un traitement de 6 MUI tous les jours pendant 12 jours, suivi par 6 MUI 3 fois/semaine pendant 22 semaines, puis 3 MUI 3 fois/semaine pendant 24 semaines. Il existait dans cette étude une diminution significative du Fibrotest chez les patients répondeurs virologiques ($0,18 \pm 0,06$ à 72 semaines *versus* $0,33 \pm 0,06$ en début de traitement) alors qu'aucune différence n'était observée chez les patients rechuteurs et non répondeurs.

Conclusion

Il n'existe actuellement aucun marqueur ou index associant plusieurs marqueurs sanguins de fibrose hépatique ayant une performance diagnostique suffisante pour évaluer seul le stade précis d'une hépatopathie en toutes circonstances. Toutefois, ces marqueurs constituent un complément intéressant de la ponction biopsie du foie qui, de plus, comporte des faux-négatifs en particulier en cas de cirrhose macronodulaire. Le meilleur marqueur reste à déterminer car si l'on dispose maintenant du Fibrotest incluant 5 marqueurs qui a été testé dans une grande série de patients [18], les résultats doivent être confirmés par d'autres équipes. De plus, cet index ne permet de différencier que les fibroses minimales des fibroses sévères. Il permet toutefois d'exclure avec certitude l'existence d'une fibrose sévère ($< F2$) quand le score est $< 0,10$ et de faire le diagnostic d'une fibrose $\geq F2$ quand il est $\geq 0,60$. Le score publié par Forns *et al.* [14] est surtout excellent pour éliminer une fibrose sévère ($< F2$) quand il est $< 4,2$. Il n'existe malheureusement aucune étude permettant de les comparer (tableau I). Il apparaît donc très important de comparer ces scores sur de grandes séries de malades ayant des prévalences de fibrose différentes pour essayer d'en améliorer la performance diagnostique et de diminuer le pourcentage de mal classés. De plus, ces index devront être comparés à des scores semi-quantitatifs histopathologiques de référence, voire une méthode d'histomorphométrie. De plus, il apparaît indispensable de valider ces marqueurs en tenant compte de l'agent causal, du stade évolutif (en particulier en fonction ou non de la persistance de l'agent causal) et de bien définir leur signification. Ces marqueurs pourraient être également utiles dans le suivi thérapeutique, surtout si l'on est capable d'augmenter leur performance.

REFERENCES

1. REGEV A, BERHO M, JEFFERS LJ, MILIKOWSKI C, MOLINA EG, PYRSOPOULOS NT *et al.* – Sampling error and intraobserver variations in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2614-2618.
2. GUECHOT J, POUPON RE, GIRAL P, BLAKAV B, GIBOUDEAU J, POUPON P. – Relationship between procollagen III aminoterminal propeptide and hyaluronan, serum levels and histological fibrosis in primary biliary cirrhosis and chronic viral hepatitis C. *J Hepatol* 1994; 20: 388-393.
3. ISHIBASHI K, KASHIWAGI T, ITO A, TANAKA Y, NAGASAWA M, TOYAMA T *et al.* – Changes in serum fibrogenesis markers during interferon therapy for chronic hepatitis type C. *Hepatology* 1996; 24: 2731.
4. LEROY V, De TRAVERSAY C, BARNOUD R, HARTMANN JD, BAUD M OUZAN D, ZARSKI JP. – Changes in histological liver and serum fibrogenesis markers in chronic hepatitis C patients non responders to interferon alpha. *J Hepatol* 2001 ; 35: 120-126.
5. OBERTI F, VALSESIA E, PILETTE C, ROUSSELET MC, BEDOSSA, AUBE C *et al.* – Non invasive diagnostic of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology* 1997; 113: 1609-1616.
6. PILETTE C, CROQUET V, VUILLEMIN E, OBERTI F, CALES P. – Diagnostic précoce et non invasif de la cirrhose du foie. *Gastroenterol Clin Biol* 1999; 23: 657-665.
7. MITSUDA A, SUOU T, IKUTA Y, KAWASAKI H – Changes in serum tissue inhibitor of matrix metalloprotein-1 after interferon alpha treatment in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 32: 666-672.
8. WALSH KM, TIMMS P, CAMPBELL S, Mac SWEEN RN, MORRIS AJ. – Plasma level of matrix metalloproteases 1- and -2 (TIMP-1 and TIMP-2) as non invasive markers of liver disease in chronic hepatitis C: comparison using ROC analysis. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 624-630.
9. LEROY V, MONIER F, BOTTARI S, TROCME C, STURM N, MOREL F, ZARSKI JP. – Circulating matrix metalloproteases 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 PIINP and hyaluronic acid. *Am J Gastroenterol* 2003; soumis.
10. CROQUET V, VUILLEMIN E, TERNISIEN C, PILETTE C, OBERTI F, GALLOIS Y *et al.* – Prothrombin index is an indirect marker of serum liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 1-9.
11. PRADAT P, ALBERTI A, POYNARD T, ESTEBAN JI, WEILAND O, MARCELLIN P *et al.* – Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Hepatology* 2002; 36: 973-977.
12. IMBERT-BISMUT F, RATZIU V, PIERONI L, CHARLOTTE F, BENHAMOU Y, POYNARD T, for the MUTIVIRC group. – Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001; 37: 1069-1075.
13. CALES P, OBERTI F, ROUSSELET MC, GALLOIS Y. – Peut-on se passer de la ponction biopsie hépatique pour évaluer le degré de fibrose hépatique? *Gastroenterol Clin Biol* 2002; 26: A72.
14. 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: 986-992.
15. PATEL K, GORDON SC, BEAUMONT W, OH E, SMITH K – A non invasive panel of serum fibrosis markers can reliably differentiate hepatitis C patients with minimal fibrosis from those with fibrosis stages F2-F4. *Hepatology* 2002; 36: 355A.
16. PARADIS V, BONVOUST F, DARGERER D, RATZIU V, POYNARD T. – Serum protein profiling of patients with chronic hepatitis C by Seldi-Tof proteinchip: a new approach for surrogate markers of liver fibrosis. *Hepatology* 2002; 36: 604 A.
17. POYNARD T, IMBERT-BISMUT F, RATZIU V, CHEVRET S, JARDEL C, MOUSSALLI J *et al.* – Biochemical markers of liver fibrosis inpatients infected by hepatitis C virus: longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepatitis* 2002; 9: 128-133.
18. MYERS RP, MESSOUS D, THABUT D, IMBERT-BISMUT F, RATZIU V, DI MARTINO V *et al.* – La vie sans biopsie hépatique est possible chez les patients ayant une hépatite chronique C: validation des marqueurs biochimiques de la fibrose et de l'activité chez 1570 patients et donneurs de sang. 51^{es} Journées de l'AFEF, Paris 2-5 octobre 2002.

Tableau I

COMPARAISON ENTRE LES 3 SCORES ACTUELLEMENT PROPOSÉS POUR ÉTUDIER LA FIBROSE HÉPATIQUE.

	Fibrotest [12]	Forns [14]	Patel [15]
Marqueurs	• a2 macroglobuline • Haptoglobine • Apolipoprotéine A1 • Bilirubine totale • GGT	• Cholestérol • Plaquettes	• Age • Acide hyaluronique • TIMP-1 • a2 macroglobuline
Méthodologie	• 1re année : N = 205	• Groupe estimé : N = 351	• Groupe 1 : N = 294

• 2e année : N = 134 • Groupe validé : N = 125 • Groupe validé : N = 122

Prévalence de la fibrose • 1re année : 39 % • Groupe estimé : 24,2 % • Groupe 1 : 51,7 %

(F2-F4) • 2e année : 44 % • Groupe validé : 26,4 % • Groupe validé : 50,0 %

Aire sous la courbe • 1re année : 0,836 • Groupe estimé : 0,86 ?

• 2e année : 0,870 • Groupe validé : 0,81 ?

Résultats

< F2 (VPN) • 1,0 (score < 0,10) • 0,96 (score < 4,2) • 0,77–0,89

≥ F2 (VPP) • 0,91 (score > 0,60) • 0,66 (score > 6,9) • 0,81–0,91

VPN = valeur prédictive négative ; VPP = valeur prédictive positive.

Aire sous la courbe : déterminée par courbe ROC.