

# Marqueurs indirects de fibrose

## La biopsie hépatique : la valeur étalon pour l'évaluation de la fibrose est remise en cause

La fibrose hépatique est la principale complication de l'hépatite C. Son terme évolutif, la cirrhose, est la cause majeure de la morbidité et de la mortalité de l'hépatite C [1]. La fibrose correspond à une accumulation excessive de matrice extracellulaire aux dépens du parenchyme hépatique avec une distribution anormale des composants matriciels dans des territoires qui en sont normalement dépourvus. La fibrogenèse est un processus dynamique caractérisé par la synthèse de molécules constitutives de la matrice extracellulaire (MEC), ensemble complexe de molécules protéiques (collagènes, élastine), glycoprotéiques (fibronectine, laminine, ...) et de protéoglycannes organisées en réseaux tridimensionnels interconnectés [2]. Des progrès importants dans la compréhension des mécanismes responsables de la fibrogenèse hépatique ont été accomplis grâce, en particulier, aux modèles animaux de fibrose et aux cultures des cellules étoilées du foie [3]. Ces mécanismes, le plus souvent indépendants de l'étiologie de l'hépatite chronique, sont responsables du développement de la cirrhose chez les malades atteints des formes les plus sévères.

L'examen anatomopathologique hépatique reste actuellement l'examen de référence pour apprécier le degré et la distribution de cette fibrose. Il permet

de surcroît d'orienter la recherche étiologique et d'apprécier d'autres causes d'hépatopathie associée. L'importance de la fibrose est quantifiée en routine à l'aide de scores semi quantitatifs dont les plus connus pour l'hépatite C, sont les scores de Metavir [4] ou d'Ishak. Cependant, la biopsie hépatique est un geste invasif dont le risque de complications graves était de 3/1 000 dans un travail multicentrique français [5] avec un risque de mortalité approximativement de 3/10 000 dans d'autres études. Le risque de complications modérées (malaise vagal, douleurs) augmentait dès le deuxième passage (3,8% après 1 passage, 10,7% après 2 passages et 6,3% après 3 passages) et celui de complications sévères : collapsus, hémopéritoine, péritonite biliaire, pneumothorax, piqûre d'un autre viscère) augmentait après 2 passages (0,5% après 1 passage, 0,7% après 2 passages et 4,3% après 3 passages) [5]. Par ailleurs, une analyse histologique valide exige des biopsies longues (15-25 mm) et une lecture par des anatomopathologistes spécialisés afin de pallier à la variabilité d'échantillonnage et la variabilité entre observateurs.

Pour ces raisons, de nombreuses équipes ont testé des méthodes non invasives pour le diagnostic de la fibrose hépatique. Il est important de noter que la biopsie hépatique a cependant servi de comparateur pour l'évaluation des méthodes non invasives de fibrose, malgré ses limites (valeur diagnostique variable en fonction de la longueur, variabilité inter-et intra-observateur en particulier, pour les anatomopathologistes non hyper spécialisés).



Ph. MATHURIN  
(Lille)

## Les marqueurs sériques de fibrose

Parmi les examens biologiques, on dispose essentiellement de marqueurs sanguins qui se distinguent en 2 catégories : les marqueurs directs qui sont des molécules directement impliquées dans la structure de la fibrose hépatique et les marqueurs indirects qui ne sont pas partie intégrante de la matrice extracellulaire. La plupart des scores utilisent des marqueurs indirects de fibrose.

La combinaison de ces marqueurs le plus souvent à l'aide de la méthode de régression logistique a permis le développement de différents indexes diagnostiques parmi lesquels, le plus connu est le Fibrotest<sup>®</sup>, mis au point par T. Poynard. 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 une population de 339 patients atteints d'hépatite chronique C [6]. La valeur du score varie de 0 à 1. L'aire sous la courbe ROC (AUROC) pour la détection d'une fibrose significative (METAVIR  $\geq$  F2) était dans les cohortes de développement et de validation respectivement de 0,82 et de 0,88. En utilisant au seuil de  $\leq 0,1$ , la valeur prédictive négative était de 100% et à celui de  $\geq 0,6$  la valeur prédictive positive était de 90%. Les auteurs observaient que l'utilisation de ces seuils aurait pu permettre d'éviter une PBH chez 46%

Tirés à part : Philippe Mathurin, Service des Maladies de l'Appareil Digestif, CHRU Lille, 59000 Lille.

de patients. Le Fibrotest® a fait l'objet d'une validation interne chez 1 570 malades avec hépatite chronique C comparés à 300 témoins [7]. Dans cette étude, à une valeur seuil  $\leq 0,31$ , la valeur prédictive négative pour une fibrose significative ( $\geq F2$ ) est de 91 % [7]. Le Fibrotest® est commercialisé avec des tables de conversion entre le score Fibrotest-Actitest et les scores METAVIR d'évaluation de la fibrose et de l'activité [7]. En utilisant les valeurs seuils ( $\leq 0,31$  et  $\geq 0,6$ ), la valeur prédictive négative et positive est de 85% et 78 % respectivement.

Ces dernières années ont vu le développement de nombreux autres tests dont la liste ne cesse de s'allonger. Cette revue ne détaillera pas tous les tests mais abordera les principaux. Dans une étude espagnole, les auteurs ont développé sur une population de 476 patients atteints d'hépatite C, un score associant l'âge, les plaquettes, la GGT et le cholestérol dont la formule est la suivante :  $7,811 - 3131 \cdot \ln(\text{taux de plaquettes}) + 0,781 \cdot \ln(\text{GGT}) + 3,467 \cdot \ln(\text{âge}) - 0,014(\text{cholestérol})$ . Les auteurs ont identifié deux valeurs seuils de  $< 4,2$  et de  $> 6,9$  ayant respectivement une valeur prédictive négative de 96% et une valeur prédictive positive de 66% pour éliminer une fibrose significative [8]. Ce score semble donc intéressant pour éliminer une fibrose significative mais dans plus de 30% des cas, la biopsie ne retrouve pas de fibrose significative chez des patients classés comme tels par le score. Le score d'APRI développé dans une étude de 270 malades atteints d'hépatite C, est très connu en raison de la simplicité de sa formule utilisant le taux d'ALAT exprimé en multiple de la limite supérieure de la normale (LSN) :  $\text{APRI} = \frac{\text{ASAT (LSN)} \cdot 100}{\text{plaquettes (10}^9\text{/l)}}$  [9]. L'aire sous la courbe ROC (AUROC) pour la détection d'une fibrose significative (Score Ishak de fibrose  $\geq F3$ ) ou d'une cirrhose (Score Ishak de fibrose  $\geq F5$ ) était de 0,88 et 0,94 respectivement. Pour le diagnostic de la fibrose significative, aux valeurs seuils de  $< 0,50$  et  $\geq 1,50$  les valeurs prédictive négative et positive étaient respectivement de 86% et 64%. Pour le diagnostic de cirrhose, aux valeurs seuils de  $\leq 1$  et  $\geq 2$ , les valeurs prédictives négative et positive étaient

respectivement de 98% et 57 % [9]. Dans un travail récent, il a été observé que le Fibrotest® avait une valeur diagnostique supérieure à celle du score d'APRI. En effet, les aires sous la courbe du Fibrotest® étaient significativement supérieures à celles du APRI pour le diagnostic de la fibrose significative (0,83 vs 0,77,  $p=0,02$ ) et pour celui de la cirrhose (0,92 vs 0,80,  $p=0,02$ ) [10]. Plus récemment, une étude comparant les scores de Forms, d'APRI et de Fibrotest® a observé que le Forms serait le moins utile des trois et que la combinaison de l'APRI et du Fibrotest® pourrait être intéressante [11]. D'autres scores ont été développés : a) celui d'une équipe française combine le PIIINP et un marqueur de fibrolyse le MMP-1 [12]; b) un autre score (FIBROSpect II) dont la formule breveté varie de 0 à 1 et combine l'acide hyaluronique, le TIMP-1 et l'alpha 2 macroglobuline [13]; c) un autre score dénommé ELF (European Liver Fibrosis Group) qui a une bonne performance diagnostique pour détecter l'absence de fibrose (VPN 92%) [14].

Parmi les tests récents, le Fibromètre® semble être l'un des plus prometteurs et son développement a comporté une comparaison aux scores Fibrotest®, Fibrospect, ELF, APRI et Forms [15]. L'aire sous la courbe était du Fibromètre® (0,883) était supérieur à celle du Fibrotest® (0,808,  $p=0,01$ ), du Forms (0,820,  $p=0,005$ ), de l'APRI (0,794,  $p<10^{-4}$ ) et du ELF (0,834,  $p=0,04$ ). Le score de Fibromètre® a été calculé et breveté à partir de 5 paramètres (plaquettes, TP, le taux d'ASAT, a2 macroglobuline, acide hyaluronique, l'urée et l'âge). Le score de Fibromètre® fluctue entre 0 et 1 [15]. La validation de ce test par des équipes indépendantes est en cours.

### Elastométrie impulsionnelle ultra sonore ou Fibroscan® : une alternative aux marqueurs de fibrose

L'élastométrie impulsionnelle ultra sonore ou Fibroscan® est une technique non invasive et indolore qui évalue la

fibrose hépatique à l'aide de la mesure de l'élasticité du foie [16]. Le principe est de donner une impulsion indolore sur la peau en regard du foie, et de suivre par une sonde d'échographie la propagation de l'onde ultra sonore dans le foie. Le Fibroscan® calcule une estimation de l'élasticité du tissu à partir de la mesure de la vitesse de l'onde. La vitesse de propagation est exprimée en kPa. L'onde ultrasonore progresse d'autant plus rapidement que la fibrose est importante. Le domaine de l'hépatite chronique virale C a le plus bénéficié de l'évaluation du Fibroscan® [11-14]. La méthode était reproductible (3 % de coefficient de variation), avec une corrélation de 0,71 ( $p<0,0001$ ) avec les stades Métavir de la fibrose. Les aires sous la courbe ROC étaient de 0,88 et 0,95 pour les diagnostics de fibrose  $\geq F2$  et la cirrhose [17].

### Les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS) pour les méthodes d'évaluation de la fibrose

L'HAS a publié en décembre 2006 ses conclusions sur les méthodes d'évaluation de la fibrose hépatique. Le groupe de travail a identifié 3 méthodes d'évaluation de la fibrose hépatique : la biopsie hépatique, les marqueurs sanguins et l'élastométrie impulsionnelle.

Le groupe de travail a précisé que parmi les scores biologiques, seul le Fibrotest® peut être considéré comme validé au vu des critères méthodologiques définis et des études publiées actuellement. D'autres scores (tout particulièrement Fibromètre® et Hepascore®) ont des premiers résultats très satisfaisants.

L'HAS a conclu que chez les adultes atteints d'hépatite chronique virale C non traitée sans co-morbidité, seuls le Fibrotest® et le Fibroscan® sont aujourd'hui validés. Une valeur inférieure à 5-7 kPa suggère une absence de fibrose et une valeur supérieure à 13-15 kPa suggère l'existence de cirrhose.

A l'inverse, chez les malades traités ou en présence d'une comorbidité associée et d'hépatopathie d'autre étiologie (alcool ou VHB), le groupe de travail de l'HAS a considéré que la seule méthode d'évaluation de la fibrose hépatique actuellement validée est la PBH. Cependant, il a été insisté sur le fait que le développement permanent de ces méthodes dans d'autres étiologies justifiera d'une réévaluation de ces méthodes dans ces situations cliniques. L'HAS met l'accent sur le fait que les tests non invasifs ne permettent de classer les malades qu'en 3 catégories : ceux ayant une forte probabilité de ne pas avoir de fibrose, ceux ayant une forte probabilité d'avoir une fibrose extensive et une catégorie intermédiaire. Elle a aussi précisé que la répétition des tests non invasifs pour évaluer l'évolution des lésions hépatiques n'est pas validée. Pour plus de détail, les conclusions du groupe de travail de l'HAS sont téléchargeables sur [www.has-santé.r](http://www.has-santé.r).

## Marqueurs non invasifs de la Fibrose : aspects pratiques

L'utilisation des marqueurs non invasifs de fibrose par les cliniciens justifie de connaissance de notions statistiques telles que la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative et le pourcentage de bien classés. On peut d'emblée regretter que les concepteurs des tests n'exposent pas clairement ces valeurs en fonction des seuils choisis. En effet, les scores de fibrose sont conçus selon une méthode permettant de déterminer la probabilité d'avoir une fibrose cliniquement significative. En conséquence, le score exprime la probabilité selon la règle suivant : 0 signifie 0% et 1 signifie 100% de risque d'avoir une fibrose significative. Cependant, présenté comme tel, le dit score ne serait d'aucune utilité au clinicien. Afin de le rendre utilisable aux cliniciens pour la prédiction des stades histologiques de fibrose, les

concepteurs des tests (Fibrotest®, Fibromètre® ou autres scores) proposent l'utilisation de leur score après transformation en seuils prédictifs du stade de fibrose déterminé selon les classifications histologiques de Metavir ou d'Ishak. Une transformation similaire a été appliquée au score d'élasticité du Fibroscan®. En conséquence, il est indispensable que le clinicien appréhende le fait que pour chaque valeur du test, plusieurs stades Metavir sont possibles. Aux valeurs extrêmes du score, la valeur diagnostique est élevée. Par exemple, pour les valeurs très basses d'un test, les patients ont une probabilité > 90% d'être F0-F1 à l'inverse pour des valeurs très élevées, la probabilité d'être F4 est supérieure à 85%. Par contre à des valeurs intermédiaires, il existe un chevauchement important des stades Metavir et le clinicien doit prendre en compte le risque d'erreur.

L'une des approches pour optimiser la valeur diagnostique des tests non invasifs est leur combinaison. Une étude récente a suggéré que l'association synchrone Fibrotest® - Fibroscan® pourrait augmenter leurs performances diagnostiques respectives. L'analyse attentive des résultats suggère cependant que l'association des 2 méthodes augmentait la performance diagnostique principalement quand l'objectif du diagnostic était un stade de fibrose  $\geq$  F3. A l'inverse, quand l'objectif était le diagnostic de fibrose  $\geq$  F2, le Fibrotest® faisait aussi bien que la combinaison Fibrotest® - Fibroscan® ou le diagnostic de cirrhose, le Fibroscan® faisait aussi bien que l'association Fibrotest® - Fibroscan® [18]. L'avenir est au développement d'algorithmes d'utilisation de combinaison des tests. Il est important de noter que ces algorithmes seront variables selon que l'objectif sera le diagnostic de la fibrose  $\geq$  F2 ou celui de cirrhose. Par ailleurs, ces algorithmes devront déterminer s'il sera plus utile d'associer ces tests de manière séquentielle ou synchrone. Une telle approche a été analysée dans une étude récente. Les auteurs ont analysé le Fibrotest®, les scores de Forms et d'APRI. Dans un premier temps les auteurs ont observé sur

l'ensemble des patients que le Fibrotest® avait la meilleure valeur diagnostique. Dans un deuxième temps, ils ont développé un algorithme séquentiel avec dans un premier temps, une mesure du score d'APRI et dans un deuxième temps, la réalisation d'un Fibrotest® chez les patients ayant des valeurs intermédiaires de score d'APRI [11]. Quand l'objectif était le diagnostic de cirrhose, cet algorithme permettait d'éviter 60-70% des biopsies et surtout d'identifier 95% des patients cirrhotiques [11]. Dans une étude française récente, les auteurs ont testé l'utilisation synchrone du Fibrotest® des scores de Forms et d'APRI. Ils suggéreraient que la biopsie ne devait être proposée que chez les malades ayant une discordance sur les 3 tests [19]. Cependant, les auteurs n'ont pas validé l'hypothèse que concordance de 2 ou 3 méthodes signifie que la prédiction du stade de fibrose soit juste et évite la PBH.

## Conclusion

Les marqueurs non invasifs constituent un progrès majeur dans la prise en charge des malades atteints d'hépatopathie chronique. Parmi les tests sanguins, le Fibrotest® est celui dont la validation a été la plus développée. D'autres scores apparaissent prometteurs. Le Fibroscan® constitue une alternative aux tests sériques. Ces méthodes permettent de diminuer la nécessité de réaliser une biopsie hépatique. Les perspectives de développement pourraient être la création d'algorithmes décisionnels qui pourraient comporter l'association de plusieurs tests. Ces méthodes seront probablement validées dans un proche avenir pour les autres hépatopathies non liées au virus C.

## RÉFÉRENCES

1. Khan MH, Farrell GC, Byth K, Lin R, Weltman M, George J, et al. Which patients with hepatitis C develop liver complications? *Hepatology* 2000; 31: 513-20.

- • • • • • • •
2. Schuppan D. Structure of the extra-cellular matrix in normal and fibrotic liver: Collagens and glycoproteins. *Semin Liver Dis* 1990; 10: 1-10.
  3. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis in integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-50.
  4. The METAVIR cooperative group. Inter and intra-observer variation in the assessment of liver biopsy of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994; 20: 15-20.
  5. Cadranel JF, Rufat P, Degos F et al. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEFL). *Hepatology* 2000; 32: 477-81.
  6. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poinard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001; 357: 1069-75.
  7. Poinard 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: 8-12.
  8. 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.
  9. 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.
  10. 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.
  11. Sebastiani G, Vario A, Guido M, et al. Stepwise combination algorithms of non-invasive markers to diagnose significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006; 44: 686-94.
  12. 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: 271-79.
  13. 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.
  14. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004; 127: 1704-13.
  15. Cales P, Oberti F, Michalak S, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology* 2005; 42: 1373-81.
  16. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. R Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-13.
  17. Ziolo M, Handra-Luca A, Kettaneh A, et al. Non invasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 48-54.
  18. Castera L, Vergniol J, Foucher J, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005; 128: 343-50.
  19. Bourlière M, Penaranda G, Renou C, et al. Validation and comparison of indexes for fibrosis and cirrhosis prediction in chronic hepatitis C patients: proposal for a pragmatic approach classification without liver biopsies. *J Viral Hepat* 2006; 13 : 659-70.

## RÉSUMÉ

### Plan

- **Revue des marqueurs indirectes**
- **Comment interpréter un résultat en fonction du score**
- **Les limites des méthodes**
- **Utilisation des méthodes à l'ère des recommandations de l'HAS**
- **Comment résoudre le problème des discordances ?**
- **Perspectives : les algorithmes permettent-ils d'associer les différents tests entre eux ?**