



MARCADORES SEROLÓGICOS DE FIBROSIS HEPÁTICA.

Maria del Mar Vilorio Peñas.

Facultativo Especialista de Área.

Ignacio Peral Camacho.

Facultativo Especialista de Área.

UGC Laboratorio Clínico. Hospital Universitario Nuestra Sra. de Valme. Área de Gestión Sanitaria Sevilla Sur.

1. INTRODUCCIÓN

Concepto: la fibrosis hepática consiste en el depósito de colágeno y otras proteínas en la matriz extracelular (MEC) del parénquima hepático. Se trata de un proceso reactivo puesto en marcha ante distintos tipos de agresión. El depósito genera una alteración de la arquitectura hepática cuya expresión más severa es la cirrosis, caracterizada por la formación de septos fibrosos y nódulos de regeneración estructuralmente anormales.

Prevalencia: en la población general, varía según la fuente consultada, situándose entre el 2,5 % y el 7,5 %. Está bien establecido que dicha prevalencia aumenta con la edad.

Etiología: las causas más frecuentes son la enfermedad por hígado graso no alcohólico, la hepatopatía alcohólica, la hepatitis crónica por virus C, la hepatitis crónica por virus B y la cirrosis biliar primaria.

Fibrogénesis hepática: ante un daño hepático agudo los hepatocitos se regeneran y sustituyen al tejido necrótico restableciendo la arquitectura hepática normal. El colágeno no fibrilar que se deposita en la matriz extracelular (MEC) constituye un sostén para dichos hepatocitos, contribuyendo a mantener la arquitectura hepática. Si la agresión se mantiene en el tiempo, disminuye la capacidad de regeneración de los hepatocitos y son sustituidos por distintas proteínas (colágeno fibrilar, fibronectina y glicosaminoglicanos) que se depositan de forma desorganizada en la MEC. Las células estrelladas hepáticas (HSC), juegan un papel central en el hígado fibrótico. En las hepatopatías crónicas, dichas células adquieren características (contractilidad, secreción de citocinas proinflamatorias y de proteínas de la MEC) que son propias de los miofibroblastos. Esta misma transformación puede presentarse en otros tipos celulares (fibroblastos portales, fibrocitos...). La contribución en mayor o menor medida de estos tipos

celulares depende de las distintas etiologías de la fibrogenesis. Durante dicho proceso los hepatocitos dañados liberan especies reactivas de oxígeno (ROS) y otros mediadores que inducen el reclutamiento de células inflamatorias (linfocitos, polimorfonucleares) que van a activar a las células estrelladas hepáticas (HSC). A este proceso también contribuyen las células de Kupffer y los macrófagos liberando citosinas y ROS. La activación de las HSC depende de una serie de sustancias promotoras entre las que destacan diversos factores de crecimiento (TGF- β y PDGF), sustancias vasoactivas (trombina, angiotensina II, endotelina-1), citocinas (MCP-1) y adipocinas (leptina). De forma inversa, distintas citocinas (IFN- α , IGF, adiponectina) y sustancias vasodilatadoras (óxido nítrico, relaxina) actúan como inhibidores de dicha activación. El factor de crecimiento transformador beta (TGF- β) es el mediador más importante de la fibrogénesis. La unión del mismo a receptores de membrana de las HSC, activa distintas cascadas intracelulares que estimulan la expresión génica de proteínas de la matriz extracelular (MEC), en particular de los genes que codifican la síntesis de procolágeno I y III. A su vez las HSC activas, secretan grandes cantidades de inhibidores tisulares de las colagenasas, los cuales también favorecen el proceso de fibrogénesis. Según recientes publicaciones, este proceso es potencialmente reversible si se modifica la interacción entre MEC y HSC favoreciendo un aumento de actividad de las colagenasas, degradación de la matriz extracelular y apoptosis de dichas células. Por tanto, parece evidente que eliminando el agente causal se va a favorecer la regresión de la fibrosis hepática. El mecanismo que provoca dicha regresión y el grado en que se produce no se conoce con exactitud, aunque es limitado ya que los cambios que se producen en las fases más avanzadas de la fibrogénesis no son fácilmente reversibles.

Clasificación: actualmente la escala más utilizada para el estadiaje de la fibrosis hepática es la METAVIR que distingue 5 estadios (F0 ausencia de fibrosis; F1 fibrosis portal; F2 fibrosis periportal; F3 septos de fibrosis; F4 cirrosis).

2. Diagnóstico de la fibrosis hepática

Ante una hepatopatía crónica el diagnóstico de la fibrosis hepática y el conocimiento de su grado son esenciales para definir la indicación del tratamiento y valorar el pronóstico de dicha hepatopatía. La biopsia hepática ha sido tradicionalmente el "Gold Standard" para el diagnóstico de esta entidad. Se trata de un método invasivo, no exento de complicaciones y de ciertas dificultades técnicas. Por esta razón en los últimos años hemos asistido a la proliferación de métodos no invasivos, tanto por imagen (Elastografía Transitoria, Ecografía Doppler, Resonancia Magnética Espectroscopia, Análisis Óptico de Imágenes de Tomografía Computerizada) como séricos (directos e indirectos).

2.1 Biopsia hepática: sus indicaciones son diagnósticas (enfermedad hepática de etiología desconocida, fiebre de origen desconocido, lesiones hepáticas focales...) y pronósticas (estadiaje de enfermedades hepáticas difusas). Puede realizarse por vía percutánea (más habitual), transyugular o laparoscópica. La complicación más frecuente (84 %) es el dolor abdominal y la más importante la hemorragia (0,05 %). El riesgo vital ocurre en una de cada 2 500-100 000

biopsias. Otras complicaciones descritas son neumotórax, hemotórax y perforación de otros órganos. Las limitaciones técnicas depende de la calidad de la muestra (debe contener como mínimo entre 10-15 espacios porta, existiendo la posibilidad de un error de muestreo debido al pequeño tamaño de la biopsia y la distribución heterogénea de la fibrosis hepática) y de las diferencias inter observador. La biopsia hepática ha sido durante años la única herramienta disponible para evaluar la fibrosis hepática. Sin embargo, su carácter invasivo, con graves complicaciones, el error de muestreo e inherente heterogeneidad de la fibrosis hepática hace que en los últimos años se hayan buscado técnicas de imagen y marcadores no invasivos alternativos. Además, aunque actualmente no existe un tratamiento farmacológico antifibrogénico efectivo para la fibrosis hepática, estudios recientes indican que sería necesario monitorizar de forma frecuente la respuesta a dicho tratamiento lo que sería inviable con la biopsia hepática.

2.2. Técnicas de imagen

2.2.1. Ultrasonografía y Elastografía: la utilidad de la ecografía convencional es muy limitada. La eco-Doppler correlaciona la velocidad de flujo en los vasos hepáticos con el grado de fibrosis. La elastografía de transición (ET) o “elastografía por pulso unidimensional” (Fibroscan)[®] mide el grado de rigidez o elasticidad de un tejido. El resultado se expresa en kilopascal (kPa). El parénquima hepático evaluado es 100 veces superior que la biopsia. Es una técnica no invasiva, rápida y sencilla. Es menos eficaz en pacientes obesos, con ascitis y con espacios intercostales estrechos. Posee relativa escasa capacidad para discriminar entre F1 y F2-F3

2.2.2. Análisis óptico de imágenes de tomografía computarizada (Fibro-Tac): software que aplicando imágenes de tomografía computarizada de hígado, sin contraste, dibuja un mapa de la distribución de la fibrosis a lo largo del hígado y calcula la media ponderada. La correlación con la fibrosis es mayor cuando la distribución de la misma es homogénea (aunque en la mayoría de los casos no es homogénea).

2.2.3. Resonancia magnética espectroscópica: utiliza fósforo-31 y permite detectar concentraciones de metabolitos activos (cociente fosfomonoéster/fosfodiéster) que se correlacionan con el estadio de la fibrosis hepática. Resultados no validados en estudios posteriores.

2.2.4. Otras técnicas de imagen pendientes de validar: cabe destacar la Resonancia Magnética Elastográfica en la que, los resultados publicados muestran una excelente fiabilidad diagnóstica para identificar pacientes tanto con fibrosis significativa (F2-F4) cirrosis (F4) y enfermedad grasa del hígado. Parece una técnica excelente sobre todo para pacientes en los que la elastografía de transición (ET) no se pueda realizar.

2.3. Marcadores séricos

Los biomarcadores séricos son parámetros que nos dan información sobre el estado de fibrosis hepática. Tratan de establecer cuál es el estado de fibrosis y de la actividad inflamatoria intentando dar una información similar a la que suministra la biopsia hepática.

Las características ideales de un biomarcador sérico de fibrosis hepática que se pueda utilizar como alternativa a la biopsia hepática deberían incluir:

- Ser específico del hígado
- Específico de fibrosis, sea cual sea el origen del daño hepático
- Presentar una buena correlación con el contenido de la matriz extracelular (MEC)
- Influido mínimamente por alteraciones en la excreción urinaria y/o biliar
- Ser lo suficientemente sensibles para discriminar entre los diferentes estadios de fibrosis
- Directamente proporcional al grado de fibrosis
- Reflejar la respuesta al tratamiento antifibrótico
- Determinación fácil y rápida
- Reproducible en cualquier laboratorio

2.3.1. Indirectos

Estos marcadores no se relacionan directamente con la fisiopatología de la producción o degradación de colágeno en el hígado, sino que reflejan las consecuencias del depósito de fibra en el órgano. Los marcadores indirectos son los más utilizados en la práctica clínica diaria, ya que su determinación es rutinaria en los laboratorios y el cálculo de los índices se puede realizar de forma sencilla desde los sistemas informáticos de los laboratorios.

Relación AST/ALT: el índice normal de aspartato aminotransferasa (AST)/alanina aminotransferasa (ALT) es de aproximadamente 0,8. El aumento de dicho índice se correlaciona con la progresión de la fibrosis. Según algunos trabajos el 75 % de los pacientes con un cociente superior a 1 presentan cirrosis hepática. No obstante, otros autores no han podido confirmar estos hallazgos.

Modelo de Forns et al: combina cuatro variables: edad, gamma glutamil transpeptidasa (GGT), plaquetas y colesterol. A partir de un análisis multivariante en una cohorte de estimación, desarrolla la siguiente fórmula:

$$7,811 - (3,131 * \ln(\text{plaquetas})) + (0,781 * \ln(\text{GGT})) + (3,467 * \ln(\text{edad})) - 0,014 * \text{colesterol}$$

F0-F1	< 4,2
F2	4,2 – 6,9
F3-F4	> 6,9

Un resultado inferior a 4.2 clasifica a los pacientes con fibrosis no significativa (F0-F1) con un área bajo la curva (AUROC) de 0,81. Este método podría descartar la presencia de fibrosis significativa (F2-F3-F4) con un 96 % de seguridad cuando la puntuación es menor de 4,2 y

por tanto evitaría la realización de una biopsia hepática percutánea en más de un tercio de los pacientes con hepatitis crónica, mientras que un resultado superior a 6,9 confirma la presencia de fibrosis avanzada. En una validación externa, el área bajo la curva (AUROC) obtenida fue de 0,78 y un valor predictivo negativo de presencia de fibrosis de entre 78 % y el 89 %.

Existen varios factores, aparte de la fibrosis, que pueden alterar los resultados del índice. Por ejemplo, la concentración de colesterol puede variar según el genotipo del VHC que se tenga, es por lo tanto un modelo genotipo dependiente. Los niveles de GGT y de otras enzimas hepáticas tienden a ser más elevados en hombres que en mujeres. El nivel de plaquetas no está bien estandarizado entre los distintos laboratorios. Como casi todas las mediciones varían a lo largo del tiempo, algunos autores han sugerido realizar un promedio de tres o más resultados en un plazo de 4 a 6 meses para obtener una puntuación del índice más precisa que si se utiliza una sola medición. Por otro lado, el valor de este índice, junto con la viremia, puede estimar la probabilidad de respuesta al tratamiento.

Modelo de APRI (AST Platelet Ratio Index): consiste en dividir el número de veces que supera la AST el límite superior de la normalidad por la cifra de plaquetas, basándose en que la fibrosis progresiva se asocia con disminución de la eliminación de AST y trombocitopenia.

$$((AST / Valor normal AST) / Plaquetas) * 100$$

F0-F1	< 0,5
F2	0,5 – 1,5
F3-F4	> 1,5

Este modelo alcanzó un AUROC de 0,83 que descendió a 0,74 en validaciones externas posteriores. Predice con un alto grado de precisión tanto la fibrosis como la cirrosis. Puede excluir aquellos pacientes con o sin fibrosis significativa con un VPN del 86 % (APRI < 0,5) y 98 % (APRI >1,5) respectivamente.

FIB-4: este índice incluye la edad, los niveles de AST, ALT y el recuento plaquetario.

$$(Edad * AST) / (Plaquetas * \sqrt{ALT})$$

F0-F1	< 1,45
F2	1,45 – 3,25
F3-F4	> 3,25

Predice de forma precisa la fibrosis en estadios avanzados

Fibrotest (Fibrosure): este índice se calcula combinando los siguientes cinco parámetros ajustados a la edad y sexo: GGT, Bilirrubina total (BbT), haptoglobina (alfa2 globulina) (HAPT), apolipoproteína A1 (Apo A1) y Alfa₂ macroglobulina (A₂M). Estos marcadores se asocian con activación de las HSC.

$$F = 4,467 * \log(A2M) - 1,357 * \log(HAPT) + 1,017 * \log(GGT) + 0,0281 * \text{edad} + 1,737 * \log(\text{BbT}) - 1,184 + (\text{Apo A1}) + 0,301 * \text{sexo}(\text{mujer}=0; \text{hombre}=1) - 5,540.$$

F0-F1	< 0,31
F2	0,31 – 0,58
F3-F4	> 0,58

Utilizando un valor de corte de 0,3 el FibroTest es capaz de predecir la fibrosis estadio F2-F4 con una sensibilidad y especificidad del 77 %.

El uso de las cinco variables del FibroTest junto con la concentración de ALT, proporciona un índice combinado denominado **ActiTest** que permite predecir la existencia de actividad inflamatoria junto con fibrosis

HGM1 y HGM2 (Hospital Gregorio Marañón 1 y 2): El HGM-1 se basa en el recuento plaquetario, AST y glucosa sérica en ayunas. El HGM-2 se basa en el recuento plaquetario, INR, Fosfatasa Alcalina y AST.

Resistencia a la insulina: Se ha relacionado con una progresión de la fibrosis hepática. El **índice Sydney** incluye resistencia a la insulina, edad, consumo de alcohol, AST y colesterol. Un valor inferior a 0,2 en dicho índice presenta un VPN de fibrosis significativa de 93 %.

El AUROC mide la efectividad de estos tests, confrontada con el actual patrón de oro que es la biopsia hepática. En el caso de que fuese un test perfecto el AUROC tendría valor de 1.

Test	AUROC
Fibrotest	0,73 – 0,87
Forns	0,81 – 0,86
APRI	0,78 – 0,88
FIB-4	0,74
HGM-1	0,81
HGM-2	0,84
Sydney	0,71 – 0,77 – 0,84

2.3.2. Directos

Los marcadores séricos directos son reflejo de los cambios cualitativos y cuantitativos que sufre la MEC durante el proceso de fibrosis. Se pueden dividir en:

1. Componentes de la MEC: ácido hialurónico (AH), laminina, elastina, fibronectina, péptido amino terminal del procolágeno III (PIIINP), procolágeno I, colágeno IV.

2. Enzimas reguladoras MEC:

- Involucradas en la síntesis: lisil oxidasa, lisil hidroxilasa, prolil hidroxilasa
- Involucradas en la degradación: metaloproteinasas de la matriz (MMP) e inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de la matriz (TIMP)

Los marcadores más prometedores son el AH, PIIINP y TIMP-1

Ácido hialurónico: es un glucosaminoglucano de alto peso molecular, con una estructura de unidades disacáridas repetidas, constituidas por N-acetilglucosamina ligada al ácido D-glucurónico. Se sintetiza por los fibroblastos, así como por otras células mesenquimales como condroblastos, osteoblastos y células musculares lisas. Su vida media es de 2,5 a 5,5 minutos, sus niveles séricos oscilan entre 1 y 10 µg / dL y su aclaramiento es fundamentalmente hepático.

Peptido N amino terminal del procolágeno III: polipéptido de 42 Kda de peso molecular, que se libera estequiométricamente durante la transformación del Procolágeno tipo III en colágeno tipo III por parte de las HSC activadas y por los fibroblastos. Sus nivel sérico en adultos oscila entre 2,3 y 6,4 ng/mL. Su eliminación es hepática.

Inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de la matriz tipo I: las metaloproteasas presentan inhibidores tanto inespecíficos (α 2 macroglobulina) como específicos, denominados TIMP. Se han descrito 4 tipos de estos últimos, siendo los TIMP1 inhibidores de las colagenasas que degradan el colágeno tipo III presente en la matriz extracelular (MEC), durante la fibrosis hepática. Su nivel sérico se sitúa entre 1,5 y 2,5 ng/mL.

Utilidad: en general los marcadores directos son más sensibles que los indirectos pero al igual que estos carecen de especificidad ya que se pueden elevar en procesos fibrogénicos de otros órganos. El Acido Hialuronico (AH), ha mostrado correlación entre sus niveles y la severidad de la enfermedad. Sirve para identificar el estadio F4 pero no los estadios iniciales. El PIIINP es un buen predictor de fibrosis en hepatitis C (VHC) y marcador de respuesta al tratamiento en estos pacientes. El TIMP1 es útil para identificar la cirrosis (F5).

Al igual que sucede con los marcadores indirectos, se han propuesto distintos algoritmos matemáticos que combinan entre si diversos marcadores directos:

ELF® (HA, PIIINP, TIMP1): propuesto por el Grupo Europeo de Fibrosis Hepática inicialmente incluía también la edad. Este algoritmo ha demostrado su utilidad en la identificación de la fibrosis significativa y la cirrosis en pacientes con VHC. Se puede aplicar también para valorar la respuesta al tratamiento antiviral y para detectar precozmente (a los 6 meses) el riesgo de desarrollar fibrosis hepática un año después de un trasplante.

FibroSpect® (HA, TIMP1, α 2 macroglobulina) útil en la diferenciación de los pacientes con fibrosis significativa.

3. Conclusiones

1.- La determinación del estadio de fibrosis es crucial la progresión de la enfermedad hepática, su pronóstico y a la toma de decisiones terapéuticas.

2.- Las posibles ventajas de los métodos no invasivos incluyen que son mejor tolerados por los pacientes, más fáciles de interpretar para los clínicos, pueden repetirse de forma periódica y son menos costosos.

3.- Una de las principales limitaciones de los marcadores biológicos de fibrosis hepática es que son determinaciones cuantitativas continuas que no necesariamente reflejan la complejidad del proceso de fibrosis. Esto provoca que todos ellos permitan discriminar, sin dificultad, la presencia de estadios extremos (F0 y F4) y que sin embargo en los grados intermedios exista un gran solapamiento de resultados que dificultan la correcta discriminación entre unos estadios y otros.

4.- La mayoría de métodos basados en tests serológicos simples identifican o excluyen, con mayor o menor fiabilidad, la presencia de una enfermedad hepática avanzada.

5.- Nuevas tecnologías como la genómica y la proteómica, pueden representar en el futuro una alternativa, para la valoración no invasiva de la fibrosis hepática

Etiología	Pacientes	Diagnóstico	Marcadores	AUROC	Referencia
HCV	183	≥ F2	FibroScan® FibroTest® APRI	0,83 0,85 0,78	Castera <i>et al.</i> Gastroenterology 2005
		Cirrosis	FibroScan® FibroTest® APRI	0,95 0,87 0,83	
HCV	241	Cirrosis	FibroScan® Forns APRI FibroTest® Acido Hialurónico	0,95 0,90 0,81 0,88 0,88	Coco <i>et al.</i> AASLD 2005
HCV	252	Cirrosis	FibroScan® FibroTest® APRI Index Lok	0,95 0,86 0,80 0,81	Castera <i>et al.</i> EASL 2006
HCV+HIV	72	Cirrosis	FibroScan® Platelets ASAT/ALAT APRI FIB-4	0,97 0,80 0,45 0,76 0,73	De Ledinghen <i>et al.</i> JAIDS 2006

Fuente: Matilde Sánchez Conde. I Congreso GeSIDA. Octubre 2009

Bibliografía

Braz J. Role of hyaluronic acid and laminin as serum markers for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *J Infect Dis.* 2012 Jan-Feb;16 (1): 9-14.

Carrión JA. Utilidad del Fibroscan® para evaluar la fibrosis hepática. *Gastroenterol Hepatol.* 2009; 32(6): 415-423.

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.

Castera, L., Bernard, P.H., Le Bail, B. y cols. What is the best non-invasive method for early prediction of cirrhosis in chronic hepatitis C. Prospective comparison between Fibroscan and serum markers (Lok index, APRI, AST/ALT ratio, platelet count and Fibrotest) (abstract). *Hepatology* 2007; 46: 156A.

Duarte-Rojo A, Altamirano JT, Feld JJ. Noninvasive markers of fibrosis: key concepts for improving accuracy in daily clinical practise. *Ann.Hepatol.* 2012 Jul-Aug; 11(4):426-39.

Fernández- Varo, G. Marcadores serológicos de fibrosis. *Gastroenterol Hepatol.* 2012;35 (supl 2): 10-16.

Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002;36(4 Pt 1):986-92.

Odena G, Bataller R. Fibrogenesis hepática: fisiopatología. *Gastroenterol Hepatol.* 2012; 35 (supl 2): 3-9.

Ripoll C, Bañares R. Biopsia hepática- *Medicine* 2012; 11: 677- 681.

Romera M, Castellano-Megías V, Romero-Gomez M. La resistencia a la insulina en la valoración no invasiva de la fibrosis en pacientes con hepatitis C. *Rev Esp Enferm Dig.* 2005; 97 Supl 1:3ª.

Romero-Gomez M, Gomez-Gonzalez E, Madrazo A, Vera-Valencia M, Rodrigo L, Perez-Alvarez R, et al. Optical analysis of computed tomography images of the liver predicts fibrosis stage and distribution in chronic hepatitis C. *Hepatology.*2008; 47:810-6.

Romero-Gomez M, Ramirez Martin del Campo M, Otero MA, et al. Estudio comparativo de dos modelos que utilizan parámetros bioquímicos en el diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática en pacientes con hepatitis C. *Med Clin (Barc).*2005; 124:761-4.

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.

Zhu Cl, Li Wt, Li Y, Gao Rt. Serum levels of tissue inhibitor of metalloproteinase – 1 are correlated with fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *J Dig Dis.* 2012: Nov 13 (11): 558-563

**EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO
COMITÉ DE EDUCACIÓN**

M. Rodríguez (*presidente*), D. Balsells, R. Deulofeu, M. Gassó, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, MC. Villà

ISSN 1887-6463 – Junio 2014 (recibido para publicación Agosto 2013).