



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Identificació de Fibrosi Hepàtica en Població General Mitjançant Mètodes Diagnòstics No Invasius

Pere Torán Monserrat

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

**IDENTIFICACIÓ DE FIBROSI HEPÀTICA EN  
POBLACIÓ GENERAL MITJANÇANT  
MÈTODES DIAGNÒSTICS  
NO INVASIUS**

**AUTOR:**

Pere Torán Monserrat

**DIRECTOR DE LA TESI:**

Llorenç Caballeria Rovira

Barcelona, desembre de 2023





UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

# IDENTIFICACIÓ DE FIBROSI HEPÀTICA EN POBLACIÓ GENERAL MITJANÇANT MÈTODES DIAGNÒSTICS NO INVASIUS

Memòria de tesi doctoral presentada per

**Pere Torán Monserrat**

Per optar al grau de doctor per la Universitat de Barcelona

**Director de la tesi:** Llorenç Caballeria Rovira, Doctor en Medicina per la  
Universitat de Barcelona

**Tutora de la tesi:** Maria Mataró Serrat, Catedràtica de Psicobiologia de la  
Universitat de Barcelona

Programa de Doctorat **Medicina i Recerca Translacional**

Facultat de Medicina i Ciències de la Salut

Universitat de Barcelona

Barcelona, desembre de 2023





## **AGRAÏMENTS**



En primer lloc vull expressar el meu agraïment al director d'aquesta tesi doctoral, Dr Llorenç Caballeria Rovira, per la dedicació i recolzament en el desenvolupament d'aquest treball, pels seus bons consells i pel rigor en el mètode, també pel seu respecte als meus suggeriments i idees i per la seva paciència amb mí al llarg de tot aquest temps. Especialment per totes les estones i projectes que hem compartit a la Unitat de Suport a la Recerca Metropolitana Nord i per la seva inesgotable capacitat de treball, gràcies amic i company.

Així mateix, agraeixo als meus companys de la Unitat de Suport a la Recerca Metropolitana Nord i de l'IDIAP Jordi Gol pels consells pràctics, ànims i suport durant aquests anys, també he après molt de i amb els seus treballs de tesi. En Guillem Pera ha estat fonamental per l'anàlisi estadística.

Especial menció a tots els membres del Grup de Recerca en Malalties Hepàtiques a l'Atenció Primària (GRemHAp) en la seva ja llarga trajectòria, sense les aportacions de cadascun d'ells aquest treball no hauria estat possible. Amb totes les tesi prèvies i les que estan en marxa actualment hem anat construint part del coneixement que ara queda exposat en aquesta tesi. Un treball de recerca sempre és el fruit d'idees, il·lusions, projectes i esforços compartits.

El meu agraïment al Dr Miquel Serra Burriel per l'abordatge econòmic i per intentar fer-me entendre conceptes de l'anàlisi socio-econòmic en salut.

Agraïment també al Dr Jordi Almirall i Pujol, que em va animar a fer el meu primer doctorat amb el seu grup a l'Hospital de Mataró i que no vaig poder acabar...però al final ho hem aconseguit !

He dedicat bona part de la meva vida professional a la recerca, intentant fer projectes en el complex entorn de l'Atenció Primària de Salut, i ajudant a altres companys a desenvolupar els seus projectes de recerca.

En aquests anys he après, i he comprovat, que no podem assolir els nostres objectius sense un bon equip, en aquest equip també són imprescindibles les persones que ens estimen, ja que sense la seva estimació i recolzament no tindríem les forces i l'energia que ens impulsa com a persones, com a professionals i com a investigadors. Gràcies a la meva família, als meus pares que cada cop enyoro més (com els hauria agradat compartir aquests moments!), i als meus sis germans amb els que vam compartir una infantesa feliç i vam aprendre a viure. A tota l'extensa família que hem creat, imprescindible en els moments baixos i insubstituïble en les celebracions. Gràcies als amics fonamentals.

Sóc conscient que la meva dedicació a la recerca ha estat sovint alimentada pel temps que generosament m'han concedit la Glòria i els meus tres fills Daniel, Kidús i Erèbia. Temps robat a la història familiar i per això aquest treball també ha de ser el seu. Moltíssimes gràcies per tot i per aguantar les meves tribulacions i angoixes amb aquesta tesi.

## **FINANÇAMENT**



Els diferents subestudis inclosos en aquesta tesi han estat finançats mitjançant els següents projectes:

- Projecte: “Detección precoz de enfermedades crónicas del hígado en población adulta aparentemente sana” del Instituto de Salud Carlos III del Ministerio de Economía y Competitividad (España), concedida en la convocatòria 2011 de la Acció de la Estrategia de Salud 2013-2016, dentro del Programa Nacional de Investigación orientada a los Retos de la Sociedad, amb la referència PI11/0267 (IP Llorenç Caballería).
- Projecte: “Cribado poblacional de fibrosis hepática con elastografía transitoria en personas con factores de riesgo de enfermedad hepática e índice de grasa hepática elevado. Estudio de validación” del Instituto de Salud Carlos III del Ministerio de Economía y Competitividad (España), concedida en la convocatòria 2018 de la Acció de la Estrategia de Salud 2013-2016, dentro del Programa Nacional de Investigación orientada a los Retos de la Sociedad, amb la referència PI18/00662 (IP: Llorenç Caballeria).

El doctorand Pere Torán Monserrat ha obtingut la següent beca:

- 19<sup>a</sup> Beca ICS per a la capacició en investigació i realització del doctorat a l'Atenció Primària. IDIAP Jordi Gol. 2018.





# ÍNDEX



LLISTAT D'ABREVIATURES .....	29
ÍNDIX DE FIGURES.....	33
ÍNDIX DE TAULES.....	37
ARTICLES QUE COMPONEN LA TESI.....	41
RESUM .....	43
INTRODUCCIÓ.....	49
1. Fetge.....	51
1.1. Definició i aspectes generals.....	51
1.2. Estructura hepàtica.....	51
1.3. Funcions del fetge.....	53
1.3.1. Metabolisme de les proteïnes.....	53
1.3.2. Homeòstasi de la glucosa.....	54
1.3.3. Metabolisme dels lípids.....	54
1.3.4. Metabolisme dels xenobiòtics.....	54
1.3.5. Síntesi de bilis.....	54
1.3.6. Altres funcions a destacar.....	55
2. Principals hepatopaties cròniques.....	55
2.1. Hepatopatia alcohòlica.....	56
2.2. Hepatitis víriques.....	59
2.2.1. Hepatopatia crònica VHB.....	59
2.2.2. Hepatopatia crònica VHC.....	64
2.3. Fetge gras no alcohòlic.....	68
3. Fibrosi hepàtica.....	73
3.1. Principis bàsics de la fibrogènesi hepàtica.....	74
3.2. Mecanismes d'activació de les cèl·lules estrellades hepàtiques.....	76
3.3. La fibrogènesi en els diferents tipus de malalties hepàtiques.....	76
3.4. Reversibilitat de la fibrogènesi hepàtica.....	79
3.5. Complicacions de la fibrosi hepàtica.....	80
3.5.1. Hipertensió portal .....	81
3.5.2. Ascites .....	81

3.5.3. Hepatocarcinoma.....	81
3.6. Prevenció de la fibrosi hepàtica.....	82
3.7. Diances terapèutiques en la fibrosi hepàtica.....	82
4. Avaluació clínica de la fibrosi hepàtica.....	85
4.1. Aspectes generals.....	85
4.2. Mètodes invasius.....	86
4.2.1. Biòpsia hepàtica.....	86
4.2.2. Gradient de pressió venós hepàtic.....	89
4.3. Mètodes no invasius.....	89
4.3.1. Metodologia utilitzada per avaluar el rendiment diagnòstic.....	89
4.3.2. Mètodes no invasius.....	91
4.3.2.1. Mètodes radiològics.....	91
4.3.2.2. Mètodes elastogràfics.....	92
4.3.2.2.1. Elastografia hepàtica transitòria.....	93
4.3.2.2.2. Controlled attenuation parameter.....	100
4.3.2.2.3. Acoustic Radiation Force Impulse.....	101
4.3.2.2.4. Elastografia per ressonància magnètica.....	102
4.3.2.2.5. Real time shear wave elastography.....	103
4.3.2.3. Marcadors serològics.....	103
4.3.2.3.1. Marcadors serològics indirectes.....	103
4.3.2.3.1.1. Fibro Test.....	105
4.3.2.3.1.2. Índex AST/ALT.....	105
4.3.2.3.1.3. Índex APRI.....	105
4.3.2.3.1.4. Índex Forns.....	106
4.3.2.3.1.5. Índex FIB-4.....	106
4.3.2.3.1.6. Índex NAFLD Fibrosis Score.....	107
4.3.2.3.1.7. Easy liver fibrosis test.....	108
4.3.2.3.1.8. Fatty Liver Index.....	109
4.3.2.3.2. Marcadors serològics directes.....	109
4.3.2.3.3. Aplicabilitat i combinació dels marcadors.....	111

4.3.2.4. Limitacions globals de les estratègies no invasives.....	113
HIPÒTESI.....	115
OBJECTIUS.....	119
PACIENTS I MÈTODES.....	123
1. Malaltia hepàtica en la població general.....	125
1.1. Disseny de l'estudi.....	125
1.2. Població d'estudi.....	125
1.2.1. Criteris d'inclusió.....	125
1.2.2. Criteris d'exclusió.....	125
1.3. Selecció de la mostra.....	125
1.4. Variables.....	126
1.4.1. Variables sociodemogràfiques.....	126
1.4.1.1. Edat.....	126
1.4.1.2. Gènere.....	126
1.4.1.3. Nivell d'estudis.....	126
1.4.1.4. Ètnia.....	126
1.4.2. Anamnesi i dades de la història clínica.....	127
1.4.2.1. Hàbits tòxics.....	127
1.4.2.1.1. Consum d'alcohol.....	127
1.4.2.1.1. Consum de tabac.....	127
1.4.2.2. Antecedents patològics personals.....	127
1.4.2.2.1. Presència de comorbiditats.....	127
1.5. Exploració física.....	128
1.5.1. Dades antropomètriques.....	128
1.5.1.1. Pes.....	128
1.5.1.2. Talla.....	128
1.5.1.3. Obesitat abdominal.....	128
1.5.1.4. Índex de massa corporal.....	128
1.5.2. Determinació de la pressió arterial.....	128
1.6. Determinació analítica.....	128

1.6.1. Hemograma complet.....	128
1.6.2. Perfil glicèmic.....	128
1.6.3. Perfil lipídic.....	128
1.6.4. Perfil hepàtic.....	129
1.6.5. Metabolisme del ferro.....	129
1.6.6. Proteïnes totals i albúmina.....	129
1.6.7. Marcadors virals.....	129
1.6.8. Perfil renal.....	129
1.6.9. Perfil tiroïdal.....	129
1.7. Diagnòstic de la síndrome metabòlica.....	129
1.8. Diagnòstic de Fibrosi Hepàtica.....	129
1.8.1. Elastografia hepàtica.....	129
1.8.2. Mètodes serològics per a la determinació de fibrosi.....	130
1.8.2.1. NAFLD fibrosi score (NFS).....	130
1.8.2.2. FIB-4.....	131
1.8.3. Biòpsia hepàtica.....	131
1.9. Diagnòstic de FGNA.....	132
1.9.1. Fatty Liver Index.....	132
1.9.2. Ecografia abdominal.....	132
1.10. Pla d'anàlisi.....	133
1.10.1. Mida de la mostra.....	133
1.10.2. Control de qualitat.....	133
1.10.3. Anàlisi estadística.....	134
2. Disseny i validació d'un algorisme diagnòstic de fibrosi hepàtica a la població general .....	137
2.1. Disseny algorisme.....	137
2.2. Validació algorisme.....	138
2.2.1. Càlcul mostral.....	139
2.2.2. Anàlisi estadística.....	139
2.3. Comparació amb altres algorismes.....	139
3. Diagnòstic serològic de fetge gras en la població general.....	141

3.1. Marcadors serològics diagnòstics de FGNA.....	141
3.1.1. Fatty Liver Index.....	141
3.1.2. Hepatic Steatosis Index.....	141
3.1.3. Lipid Accumulation Product.....	141
3.1.4. Transaminases.....	142
3.2. Comparació dels diferents marcadors serològics de FGNA amb la fibrosi hepàtica.....	142
3.3. Anàlisi estadística.....	142
4. Diagnòstic de fibrosi hepàtica en la població general.....	143
4.1. Marcadors serològics diagnòstics de fibrosi.....	143
4.1.1. Mètodes serològics indirectes.....	143
4.1.1.1. Índex NAFLD fibrosis score.....	143
4.1.1.2. Índex FIB-4.....	143
4.1.1.3. Índex APRI.....	143
4.1.1.4. Índex FORNS.....	144
4.1.1.5. Easy liver fibrosis test (eLIFT).....	144
4.1.1.6. Índex BARD score.....	144
4.1.1.7. Transaminases.....	144
4.2. Comparació entre els marcadors de diagnòstic i de fibrosi en el FGNA.....	145
4.2.1. Capacitat diagnòstica dels diferents marcadors serològics.....	145
4.3. Marcadors serològics en pacients amb un o més factors de risc.....	145
4.4. Mètodes serològics directes.....	145
4.4.1. Enhanced liver fibrosis.....	145
4.5. Anàlisi estadística.....	145
5. La síndrome metabòlica com a factor de risc de fibrosi hepàtica en subjectes amb consum de risc d'alcohol.....	147
5.1. Anàlisi estadística.....	148
6. Anàlisi de cost-efectivitat de l'elastografia hepàtica en la detecció precoç de fibrosi hepàtica en l'atenció primària .....	149
6.1. Anàlisi estadística.....	150
6.2. Model econòmic.....	151



RESULTATS.....	153
1. Malaltia hepàtica en la població general.....	155
1.1. Descripció de la població d'estudi.....	155
1.1.1. Participació.....	155
1.1.2. Característiques basals de la mostra.....	155
1.1.2.1. Característiques sociodemogràfiques, clíniques i comorbiditats.....	155
1.1.2.2. Característiques de les diferents variables de l'exploració física.....	158
1.1.2.3. Característiques de les diferents determinacions analítiques.....	159
1.1.2.4. Prevalença d'esteatosi segons el Fatty Liver Index.....	160
1.1.2.5. Ecografia abdominal.....	160
1.2. Estudi de fibrosi hepàtica .....	161
1.2.1. Elastografia hepàtica.....	161
1.2.1.1. Distribució dels valors elastogràfics en la població.....	161
1.2.1.2. Prevalença de fibrosi hepàtica segons els diferents punts de tall elastogràfics.....	162
1.2.1.3. Principals factors associats a l'elastografia hepàtica mitjançant anàlisi univariant.....	163
1.2.1.4. Factors de risc associats a l'elastografia hepàtica segons l'anàlisi multivariant de regressió logística.....	165
1.2.1.5. Prevalença del percentatge d'alteració elastogràfica segons els diferents punts de tall en les diferents variables estudiades.....	166
1.3. Biòpsia hepàtica.....	169
1.3.1. Estadi de fibrosi segons el valor de l'elastografia.....	172
1.4. Marcadors serològics de fibrosi.....	175
1.4.1. NAFLD Fibrosis Score.....	175
1.4.2. Índex FIB-4.....	176
1.4.3. Capacitat predictiva de l'elastografia hepàtica, NFS, FIB-4 i ALT segons la severitat de la fibrosi hepàtica (F0 - F1 vs F2 - F4).....	177
1.4.4. Factors de risc i alteració elastogràfica.....	178
2. Disseny i validació d'un algorisme diagnòstic de fibrosi hepàtica a la població general .....	181

2.1. Model d'algorisme utilitzant el marcador NFS.....	183
2.2. Model d'algorisme utilitzant el marcador FIB-4.....	183
2.3. Model d'algorisme utilitzant el marcador Fatty Liver Index.....	184
2.4. Validació de l'algorisme.....	187
2.4.1. Característiques basals de la mostra.....	187
2.5. Comparació entre l'algorisme obtingut mitjançant el FLI i els algorismes que utilitzen els marcadors serològics FIB-4 i NAFLD fibrosis score.....	193
3. Marcadors serològics de FGNA.....	195
3.1. Marcadors serològics de FGNA i l'ecografia abdominal.....	197
3.2. Marcadors serològics de FGNA i la presència de fibrosi segons EH.....	198
3.3. Marcadors serològics de FGNA i la presència de fibrosi segons la biòpsia.....	201
4. Marcadors serològics de fibrosi.....	205
4.1. Marcadors serològics de fibrosi i FGNA.....	208
4.2. Marcadors serològics de fibrosi i la presència de fibrosi segons EH.....	209
4.3. Marcadors serològics de fibrosi i la presència de fibrosi segons la biòpsia.....	214
4.4. Comparació de marcadors de FGNA i de fibrosi.....	217
4.5. Marcadors d'esteatosi, fibrosi i EH en pacients amb un o més factors de risc.....	221
4.6. Capacitat i relació d'ELF amb els marcadors de diagnòstic de FGNA, de fibrosi i amb l'EH i la biòpsia hepàtica.....	225
5. La síndrome metabòlica com a factor de risc de fibrosi hepàtica en subjectes amb consum de risc d'alcohol.....	229
5.1. Característiques de la població.....	229
5.2. Elastografia hepàtica, marcadors serològics de fibrosi i resultat histològic.....	230
5.3. Factors associats a la fibrosi hepàtica en subjectes amb consum actual d'alcohol. Relació amb la síndrome metabòlica.....	232
6. Anàlisi de cost-efectivitat de l'elastografia hepàtica en la detecció precoç de fibrosi hepàtica en l'atenció primària.....	235
6.1. Dades demogràfiques dels pacients.....	235
6.2. Mesures de rigidesa hepàtica.....	236

6.3. Grau de fibrosi segons la biòpsia hepàtica i punts de tall d'EH per fibrosi significativa en població general i de risc.....	236
6.4. Resultats de cost-efectivitat.....	241
DISCUSSIÓ.....	245
1. Malaltia hepàtica a la població general.....	247
2. Disseny i validació d'un algorisme diagnòstic de fibrosi hepàtica a la població general .....	263
3. Marcadors serològics de FGNA.....	273
4. Marcadors serològics de fibrosi.....	279
5. La síndrome metabòlica com a factor des risc de fibrosi hepàtica en subjectes amb consum de risc d'alcohol.....	295
6. Anàlisi de cost-efectivitat de l'elastografia hepàtica en la detecció precoç de fibrosi hepàtica en l'atenció primària.....	299
RESUM I CONCLUSIONS.....	303
BIBLIOGRAFIA.....	311
ANNEXES	
Articles publicats en relació a la present tesi.....	345

## LLISTAT D'ABREVIATURES

**AAD:** Antivirals d'acció directa  
**AASLD:** Associació Americana per l'estudi de les Malalties Hepàtiques  
**AH:** Àcid hialurònic  
**ALT:** Alanina aminotransferasa  
**ARFI:** Acousting radiation force impuls  
**AST:** Aspartat aminotransferasa  
**AUROC:** Àrea sota la corba ROC  
**CAP:** Controlled Attenuation Parameter  
**CTREE:** Arbres d'inferència condicional  
**DALYs:** Pèrdues per mort prematura o incapacitat  
**DANA:** Diferència entre fibrosi avançada i no avançada  
**DE:** Alemanya  
**DK:** Dinamarca  
**DM2:** Diabetis mellitus tipus 2  
**DOR:** Diagnostic Odds Ratio  
**DPC:** Distància pell-càpsula  
**ECAP:** Estació Clínica d'Atenció Primària  
**EFSUMB:** European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology  
**EHNA:** Esteatohepatitis no alcohòlica  
**EH:** Elastografia hepàtica  
**ELF:** Enhanced liver fibrosis  
**eLIFT:** Easy liver fibrosis test  
**ES:** Espanya  
**FGNA:** Fetge gras no alcohòlic  
**FLI:** Fatty Liver Index  
**FR:** França  
**GGT:** Gamma glutamiltransferasa  
**GPVH:** Gradient de pressió venosa hepàtica  
**HA:** Hepatopatia alcohòlica  
**HbA1C:** Hemoglobina glicosilada  
**HBsAg:** Antigen de superfície VHB  
**HC:** Hepatopatia crònica  
**HCC:** Hepatocarcinoma  
**HDL:** Lipoproteïnes d'alta densitat del colesterol  
**HK:** Hong Kong

**HSC:** Cèl·lules hepàtiques estrellades

**HSI:** Hepatic steatosis index

**HTA:** Hipertensió arterial

**ICER:** Relació cost-efectivitat incremental

**IFN- $\gamma$ :** Interferó gamma

**IMC:** Índex de massa corporal

**IQR:** Interquartile rang (rang interquartílic)

**kPa:** Kilopascals

**LAP:** Lípid accumulation product

**LDL:** Lipoproteïnes de baixa densitat del colesterol

**LR:** Likelihood ratios

**MEC:** Matriu extracel·lular

**MMP:** Metal·loproteïnases

**NCEP-ATP III:** National Cholesterol Education Program-Adult Treatment panel III

**NFS:** NAFLD fibrosis score

**NK:** Natural killer

**NNS:** Nombre necessari per cribar

**OMS:** Organització Mundial de la Salut

**OR:** Odds Ratio

**PCR:** Proteïna C reactiva

**PIIINP:** Propèptid aminoterminal del procol·lagen tipus III

**PIB:** Producte interior brut

**PPA:** Paritat de poder adquisitiu

**QALYs:** Anys de vida ajustat per qualitat

**RH:** Rigidesa hepàtica

**RI:** Resistència a la insulina

**RIQ:** Rang interquartil

**RM:** Ressonància magnètica nuclear

**RME:** Ressonància magnètica elastogràfica

**ROC:** Receiver Operating Characteristic

**ROS:** Espècies reactives d'oxigen

**RVS:** Resposta viral sostinguda

**SIAP:** Sistema d'Informació d'Atenció Primària

**SM:** Síndrome metabòlica

**SRA:** Sistema renina-angiotensina

**SWE:** Real time shear wave elastography

**T4:** Tiroxina  
**TAC:** Tomografia axial computeritzada  
**TGF $\beta$ :** Factor de creixement transformador beta  
**TIMP:** Inhibidors tissulars de les col·lagenases  
**TSH:** Tirotropina  
**UBE:** Unitat de beguda estàndard  
**UK:** Regne Unit  
**VCTE:** Elastografia hepàtica controlada per vibració  
**VHB:** Hepatitis crònica pel virus B  
**VHC:** Hepatitis crònica pel virus C  
**VIH:** Virus d'immunodeficiència humana  
**VPN:** Valor predictiu negatiu  
**VPP:** Valor predictiu positiu



## ÍNDIX DE FIGURES

Figura 1. Visió anterior i posteroinferior del fetge.....	52
Figura 2. Visió esquemàtica de l'estructura hepàtica.....	53
Figura 3. Principals malalties hepàtiques cròniques i la seva evolució.....	55
Figura 4. Mortalitat per malaltia alcohòlica en països europeus.....	57
Figura 5. Mortalitat per malaltia hepàtica crònica VHB.....	60
Figura 6. Incidència acumulada d'infecció crònica VHB.....	62
Figura 7. Prevalença de la infecció VHC.....	64
Figura 8. Incidència de la infecció VHC a la població general.....	65
Figura 9. Mortalitat per malaltia hepàtica crònica VHC.....	66
Figura 10. Prevalença de FGNA.....	69
Figura 11. Procés de fibrosi hepàtica.....	74
Figura 12. Etiologies que poden provocar fibrosi hepàtica.....	77
Figura 13. Patogènia de la fibrosi hepàtica.....	78
Figura 14. Mecanismes cel·lulars de la fibrosi hepàtica.....	78
Figura 15. Elastografia hepàtica (Fibroscan®).....	94
Figura 16. Elastografia hepàtica (Fibroscan®).....	95
Figura 17. Elastografia hepàtica i CAP.....	101
Figura 18. Diagrama de flux de les diferents cohorts.....	150
Figura 19. Distribució dels punts de tall elastogràfics.....	162
Figura 20. Percentatge de subjectes amb alteració elastogràfica segons els punts de tall.....	162
Figura 21. Prevalença de les diferents variables en subjectes amb alteració elastogràfica.....	168
Figura 22. Relació entre FLI i EH.....	169
Figura 23. Percentatge de subjectes classificats correctament per EH segons el grau de fibrosi histològic.....	173



Figura 24. Corba ROC d'EH i fibrosi .....	173
Figura 25. Percentatge de subjectes amb EH positiva que tenen realment fibrosi segons la biòpsia hepàtica (VPP).....	174
Figura 26. Corbes ROC per fibrosi d'EH, NFS, FIB-4 i ALT.....	178
Figura 27. Comparació dels valors de les corbes AUROC dels diferents marcadors en relació a l'EH de 9,2 kPa.....	181
Figura 28 Algorisme diagnòstic de fibrosi segons el NFS.....	183
Figura 29. Algorisme diagnòstic de fibrosi segons el FIB-4.....	183
Figura 30. Algorisme diagnòstic de fibrosi segons el FLI.....	184
Figura 31. Algorisme diagnòstic de fibrosi en la població general.....	186
Figura 32. Percentatge de diagnòstic de fibrosi aplicant l'algorisme.....	186
Figura 33. Algorisme diagnòstic de fibrosi proposat.....	188
Figura 34. Algorisme diagnòstic de fibrosi validat.....	189
Figura 35. Distribució d'EH de la mostra original.....	192
Figura 36. Distribució d'EH de la mostra de validació.....	192
Figura 37. Distribució d'EH en la totalitat de les dues cohorts.....	192
Figura 38. Distribució d'EH d'ambdues cohorts excloent els pacients amb EH>20 kPa.....	193
Figura 39. Comparació amb l'algorisme utilitzant el FIB-4.....	194
Figura 40. Comparació amb l'algorisme utilitzant el NFS.....	194
Figura 41. Distribució dels valors de FLI a la població.....	195
Figura 42. Distribució dels valors de HSI a la població.....	196
Figura 43. Distribució dels valors de LAP a la població.....	196
Figura 44. Relació entre FLI i transaminases altes.....	197
Figura 45. Relació entre HSI i transaminases altes.....	197
Figura 46. Relació entre LAP i transaminases altes.....	197
Figura 47. Corbes ROC per fibrosi de FLI, HSI, LAP i transaminases (8,0 kPa).....	200

Figura 48. Corbes ROC per fibrosi de FLI, HSI, LAP i transaminases (9,2 kPa).....	201
Figura 49. Corbes ROC per fibrosi de FLI, HSI, LAP i transaminases.....	204
Figura 50. Distribució dels valors de NFS a la població.....	205
Figura 51. Distribució dels valors de FIB-4 a la població.....	205
Figura 52. Distribució dels valors de l'índex APRI.....	206
Figura 53. Distribució dels valors de l'índex Forns.....	206
Figura 54. Distribució dels valors de l'índex eLIFT.....	206
Figura 55. Distribució dels valors de l'índex BARD.....	206
Figura 56. Relació entre NFS i transaminases altes.....	206
Figura 57. Relació entre FIB-4 i transaminases altes.....	206
Figura 58. Relació entre l'índex APRI i transaminases altes.....	207
Figura 59. Relació entre l'índex Forns i transaminases altes.....	207
Figura 60. Relació entre l'índex eLIFT i transaminases altes.....	207
Figura 61. Relació entre l'índex BARD i transaminases altes.....	207
Figura 62. Relació entre l'índex NFS i transaminases $\geq 80$ U/L.....	207
Figura 63. Relació entre l'índex FIB-4 i transaminases $\geq 80$ U/L.....	207
Figura 64. Relació entre l'índex APRI i transaminases $\geq 80$ U/L.....	208
Figura 65. Relació entre l'índex Forns i transaminases $\geq 80$ U/L.....	208
Figura 66. Relació entre l'índex eLIFT i transaminases $\geq 80$ U/L.....	208
Figura 67. Relació entre l'índex BARD i transaminases $\geq 80$ U/L.....	208
Figura 68. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors de fibrosi (8,0 kPa).....	211
Figura 69. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors de fibrosi (8,0 kPa) excloent eLIFT.....	212
Figura 70. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors de fibrosi (9,2 kPa).....	213
Figura 71. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors de fibrosi (9,2 kPa) excloent eLIFT.....	213
Figura 72. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors de fibrosi segons biòpsia hepàtica.....	216
Figura 73. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors de fibrosi segons biòpsia hepàtica.....	217
Figura 74. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH de 8,0 kPa.....	219

Figura 75. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH de 9,2 kPa.....	219
Figura 76. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a la biòpsia hepàtica....	221
Figura 77. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH 8,0 kPa en pacients amb factors de risc.....	224
Figura 78. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH 9,2 kPa en pacients amb factors de risc.....	224
Figura 79. Distribució dels valors de ELF en els subjectes amb transaminases elevades.....	225
Figura 80. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH 8,0 kPa incloent ELF.....	227
Figura 81. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH 9,2 kPa incloent ELF.....	227
Figura 82. Distribució dels valors de l'EH en els quatre grups segons consum d'alcohol.....	231
Figura 83. Distribució dels valors de NFS en els quatre grups segons consum d'alcohol.....	231
Figura 84. Distribució dels valors de FIB-4 en els quatre grups segons consum d'alcohol.....	231
Figura 85. Distribucions d'EH entre les diferents cohorts components.....	236
Figura 86. Distribucions grupals d'EH segons el grau de fibrosi entre les diferents cohorts components.....	237
Figura 87. Estadi de fibrosi segons el CTREE i segons els punts de tall de l'EH.....	240
Figura 88. Estimacions de supervivència del model de cost-efectivitat per grup i diagnòstic de fibrosi.....	242
Figura 89. Corbes de cost-efectivitat per país i tipus de població estudiada.....	243

## ÍNDIX DE TAULES

Taula 1. Estadificació dels sistemes de classificació de la fibrosi hepàtica.....	87
Taula 2. Proves d'imatge en el diagnòstic de fibrosi hepàtica.....	92
Taula 3. Proves elastogràfiques en el diagnòstic de fibrosi hepàtica.....	93
Taula 4. Índexs serològics indirectes.....	104
Taula 5. Variables sociodemogràfiques, clíniques i comorbiditats.....	156
Taula 6. Variables de l'exploració física.....	158
Taula 7. Distribució de mitjanes i desviació estàndard dels paràmetres analítics.....	159
Taula 8. Percentatge d'alteració dels paràmetres analítics a la població.....	160
Taula 9. Percentatge d'alteració del FLI entre la població.....	160
Taula 10. Principals factors associats a l'EH segons l'anàlisi univariada.....	164
Taula 11. Factors de risc associats a l'increment de l'EH segons l'anàlisi multivariant.....	165
Taula 12. Factors de risc associats a l'increment de l'EH segons l'anàlisi multivariant, excloent els pacients amb consum de risc d'alcohol i serologies víriques positives.....	166
Taula 13. Percentatge d'alteració elastogràfica en cadascuna de les variables.....	167
Taula 14. Prevalença de les diferents variables en els subjectes amb alteració elastogràfica.....	168
Taula 15. Valors de l'EH segons el grau de fibrosi.....	170
Taula 16. Característiques dels subjectes biopsiats segons el grau de fibrosi.....	171
Taula 17. Diferents punts de tall elastogràfics i grau de fibrosi.....	172
Taula 18. Sensibilitat (S) i especificitat (E) dels diferents punts de tall.....	174
Taula 19. Diferents punts de tall elastogràfics i grau de fibrosi.....	174
Taula 20. NFS i valors elastogràfics.....	175
Taula 21. NFS segons els diferents punts de tall elastogràfics.....	176
Taula 22. FIB-4 i valors elastogràfics.....	176
Taula 23. FIB-4 segons els diferents punts de tall elastogràfics.....	177
Taula 24. Mitjanes de NFS segons el grau de fibrosi hepàtica.....	177

Taula 25. Mitjanes FIB-4 segons el grau de fibrosi hepàtica.....	177
Taula 26 Valors elastogràfics segons els factors de risc.....	179
Taula 27 Percentatge de pacients amb EH $\geq 9,2$ kPa.....	182
Taula 28. Característiques basals de la mostra de l'estudi de validació.....	188
Taula 29. Comparació en percentatge de l'aplicació dels diferents passos a les dues cohorts.....	189
Taula 30. Sensibilitat, especificitat, VPP i VPN entre les dues cohorts.....	190
Taula 31. Comparació entre les dues cohorts segons els passos de l'algorisme.....	191
Taula 32. Mitjanes i percentatges dels diferents marcadors de diagnòstic de FGNA...	195
Taula 33. Comparació dels marcadors serològics de FGNA i l'ecografia abdominal...	198
Taula 34. Correlació entre els marcadors serològics de FGNA i l'EH.....	198
Taula 35. Associació entre els marcadors de FGNA i l'EH.....	199
Taula 36. Associació entre els marcadors de FGNA i l'EH segons variables categòriques.....	199
Taula 37. Capacitat diagnòstica de fibrosi dels marcadors de FGNA.....	200
Taula 38. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de FGNA prenent com a referència el punt de tall de 8,0 kPa.....	200
Taula 39. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de FGNA prenent com a referència el punt de tall de 9,2 kPa.....	201
Taula 40. Mitjana dels marcadors segons el grau de fibrosi obtingut per biòpsia.....	202
Taula 41. Associació entre els marcadors de FGNA i la biòpsia segons variables categòriques.....	202
Taula 42. Capacitat diagnòstica de fibrosi dels marcadors de FGNA.....	203
Taula 43. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de FGNA.....	203
Taula 44. Valors per discriminar entre F0-F1 i F2-F4.....	204
Taula 45. Mitjanes i percentatges dels diferents marcadors serològics de fibrosi.....	205
Taula 46. Relació entre els marcadors de fibrosi i el FGNA.....	208

Taula 47. Correlació entre els marcadors serològics de fibrosi i l'EH.....	209
Taula 48. Associació entre els marcadors de fibrosi i l'EH.....	209
Taula 49. Associació entre els marcadors de fibrosi i l'EH segons variables categòriques.....	210
Taula 50. Correlació entre els marcadors de fibrosi i l'EH segons variables categòriques.....	211
Taula 51. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	211
Taula 52. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	212
Taula 53. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	212
Taula 54. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	213
Taula 55. Mitjana dels marcadors segons el grau de fibrosi obtingut per biòpsia.....	214
Taula 56. Associació entre els marcadors de fibrosi i la biòpsia segons variables categòriques.....	214
Taula 57. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	215
Taula 58. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	216
Taula 59. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	216
Taula 60. Valors per discriminar entre F0-F1 i F2-F4 segons biòpsia hepàtica.....	217
Taula 61. Capacitat diagnòstica dels marcadors segons el valor de l'EH.....	218
Taula 62. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	219
Taula 63. Capacitat diagnòstica dels marcadors segons la biòpsia hepàtica.....	220
Taula 64. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.....	220
Taula 65. Percentatges dels factors de risc.....	221
Taula 66. Valor mitjà dels marcadors en pacients amb factors de risc segons el valor de l'EH.....	222
Taula 67. Relació entre els marcadors de fibrosi i l'EH segons variables categòriques en pacients amb factors de risc.....	222

Taula 68. Capacitat diagnòstica de fibrosi dels marcadors segons l'EH en pacients amb factors de risc.....	223
Taula 69. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi en pacients amb factors de risc.....	224
Taula 70. Correlació entre ELF i els marcadors de fibrosi.....	226
Taula 71. Relació entre ELF i l'EH.....	226
Taula 72. Capacitat diagnòstica de fibrosi dels marcadors segons l'EH incloent ELF..	227
Taula 73. Capacitat diagnòstica d'ELF segons la biòpsia hepàtica.....	228
Taula 74. Característiques basals de la població de l'estudi classificada en quatre grups segons el consum d'alcohol.....	229
Taula 75. EH, NFS i FIB-4 en la població d'estudi classificats com abstinentes, ex-bevedors, bevedors moderats i d'alt risc.....	230
Taula 76. Classificació de la fibrosi segons la biòpsia hepàtica entre els ex-bevedors, bevedors moderats i bevedors de risc amb EH $\geq$ 8 kPa.....	232
Taula 77. Anàlisi multivariant dels factors de risc associats a la fibrosi hepàtica en tots els bevedors.....	232
Taula 78. Característiques basals del grup de subjectes amb consum d'alcohol de risc amb i sense fibrosi significativa avaluat per EH (n=275).....	233
Taula 79. Anàlisi multivariant dels factors de risc associats a la fibrosi hepàtica en bevedors de risc.....	234
Taula 80. Prevalença d'EH $\geq$ 8kPa en funció del consum d'alcohol i la presència de síndrome metabòlica entre els bevedors d'alcohol de risc (n = 268).....	234
Taula 81. Característiques basals dels pacients dels 6 països inclosos a l'estudi.....	235
Taula 82. Característiques basals dels pacients de les cohorts components amb biòpsia hepàtica.....	238
Taula 83. Model CTREE de diagnòstic, validació creuada.....	239
Taula 84. Nombre necessari de subjectes a fer cribratge per factor de risc i país.....	241

## TESI EN FORMAT CLÀSSIC AMB 2 ARTICLES ANNEXATS

Serra-Burriel M, Graupera I, **Torán P**, Thiele M, Roulot D, Wai-Sun Wong V, Neil Guha I, Fabrellas N, Arslanow A, Expósito C, Hernández R, Lai-Hung Wong G, Harman D, Darwish Murad S, Krag A, Pera G, Angeli P, Galle P, Aithal GP, Caballeria L, Castera L, Ginès P, Lammert F; investigators of the LiverScreen Consortium. Transient elastography for screening of liver fibrosis: Cost-effectiveness analysis from six prospective cohorts in Europe and Asia. *J Hepatol.* 2019;71(6):1141-1151.

doi: 10.1016/j.jhep.2019.08.019. PMID: 31470067.

Factor d'impacte 2019: 20.582.

Quartil de la revista: Q1.

Àrea de coneixement: Hepatologia.

Els autors Serra-Burriel i Graupera, han contribuït per igual en aquest treball éssent primers autors tal i com es mostra en l'article original.

Pose E, Pera G, **Torán P**, Gratacós-Ginès J, Avitabile E, Expósito C, Díaz A, Graupera I, Rubio AB, Ginès P, Fabrellas N, Caballeria L. Interaction between metabolic syndrome and alcohol consumption, risk factors of liver fibrosis: A population-based study. *Liver Int.* 2021;41(7):1556-1564.

doi: 10.1111/liv.14830. PMID: 33595176.

Factor d'impacte 2021: 5,828.

Quartil de la revista: Q1.

Àrea de coneixement: Hepatologia.

Els autors Pose i Pera, comparteixen la primera autoria.





## **RESUM DE LA TESI**



**Introducció:** Les malalties hepàtiques cròniques són un problema de salut molt rellevant en el nostre entorn, essent cada vegada més prevalents. A més, un percentatge desconegut d'individus de la població general presenta una fibrosi hepàtica. La inflamació crònica del fetge, sigui quina sigui la seva causa, és asimptomàtica en la immensa majoria dels casos, això determina que el diagnòstic de la malaltia no es faci fins a fases molt avançades de la seva història natural, quan els pacients ja tenen una cirrosi, situació en la qual la malaltia ja és irreversible.

**Objectiu:** Identificar les malalties hepàtiques cròniques en fases precoces de la seva evolució, des de l'Atenció Primària de Salut, utilitzant eines diagnòstiques no invasives serològiques o elastogràfiques.

**Metodologia:** S'han dut a terme 6 subestudis descriptius, multicèntrics i de base poblacional. Es van incloure subjectes adults d'entre 18 i 75 anys adscrits a 16 equips d'Atenció Primària de les comarques del Barcelonès Nord i Maresme, seleccionats aleatòriament. La validació de l'algorisme del subestudi 2 es va dur a terme en subjectes majors de 40 anys amb factors de risc de malaltia hepàtica (metabòlics o consum de risc d'alcohol) procedents dels mateixos centres d'Atenció Primària. Per al subestudi 6 es van incloure cohorts poblacionals procedents de cinc països europeus i un asiàtic. Els criteris d'exclusió varen ser presència de malaltia hepàtica crònica coneguda, patologies cròniques greus, deteriorament cognitiu, pacients institucionalitzats o aquells que no van atorgar el consentiment per participar.

**Resultats:** Es van incloure 3.014 subjectes, 57% dones, edat  $54 \pm 12$  anys. El 28% tenien síndrome metabòlica (SM), 9% consum de risc d'alcohol. Un 1% van presentar VHB i VHC+. Els subjectes amb augment de l'elastografia hepàtica (EH) segons els punts de tall predefinits (6,8 kPa; 8,0 kPa i 9,0 kPa) van ser 9%; 5,8% i 3,6%, respectivament. A l'anàlisi multivariant: l'edat, sexe, augment transaminases i SM es va associar a un valor més elevat d'EH. La biòpsia es va realitzar al 33% dels pacients. El diagnòstic histològic va ser: fetge gras no alcohòlic (FGNA)/esteatohepatitis no alcohòlica 81 subjectes, hepatopatia crònica alcohòlica en 7, fetge normal en 4. Es va observar una relació significativa entre l'EH i el grau de fibrosi:  $8,5 \pm 1,9$ ;  $7,9 \pm 1,5$ ;  $10,7 \pm 1,5$ ;  $14,2 \pm 1,6$  i  $30,8 \pm 10,8$  kPa, de F0 a F4, respectivament ( $p < 0,001$ ). El percentatge de pacients amb fibrosi significativa ( $\geq 2$ ) es va relacionar amb els punts de tall d'EH, sent del 32%, 45% i 59% per als punts de tall de 6,8; 8,0 i 9,0 kPa, respectivament. El cut-off d'EH amb més precisió per al diagnòstic de fibrosi significativa ( $\geq 2$ ) va ser de 9,2 kPa amb una sensibilitat i especificitat del 92% i 80%, AUROC de 0,87, classificant correctament el

65% dels pacients. La prevalença global de fibrosi va ser de 3,2%. La prevalença de fibrosi en pacients amb almenys un factor de risc per FGNA (obesitat, diabetis tipus 2, hiperlipidèmia, hipertensió arterial o SM) va ser del 5,0%, en comparació al 0,4% en pacients sense factors de risc (1.269 subjectes; 42,1%). De tots els marcadors estudiats el FLI (*Fatty Liver Index*), va tenir el millor valor predictiu negatiu (99,7%). Els pacients amb FLI<60 tenien una prevalença molt baixa de fibrosi (2 de 628 subjectes; 0,3%). En canvi, la prevalença de fibrosi entre subjectes amb FLI≥60 va ser 8,6% (p<0,001). Amb aquests resultats, només el 35,7% de la població de 18-75 anys s'hauria de sotmetre a un cribratge per detectar fibrosi amb EH i un 3,1% tindria una EH ≥9,2 kPa i s'haurien de derivar des de l'Atenció Primària a la medicina especialitzada. Per la validació d'aquest algorisme es van incloure 3.304 subjectes amb característiques clíniques i analítiques similars a la cohort original. Els resultats van ser pràcticament idèntics a l'algorisme proposat, confirmant que a aquells subjectes amb factors de risc, se'ls ha de determinar el FLI i si aquest és ≥60 s'hauria de fer una EH i segons els resultats derivar o no. Entre els diferents marcadors serològics estudiats per al diagnòstic de FGNA el FLI va ser el millor, presentant a més una bona correlació amb l'ecografia abdominal. Pel diagnòstic de fibrosi els marcadors serològics que han mostrat una capacitat diagnòstica millor són el NAFLD fibrosi score, el FIB-4 i l'Índex Forns. Tanmateix, l'EH va mostrar una capacitat diagnòstica significativament superior als marcadors serològics. Els 275 (9,1%) subjectes amb consum de risc d'alcohol presentaven una major prevalença dels factors metabòlics, així com un valor més elevat de FLI. A més hi va haver una clara correlació entre el consum d'alcohol i la presència de SM. Al subestudi de cost-efectivitat es van incloure 6.295 subjectes procedents de les 6 cohorts de diversos països, amb una edat mitjana de 54,7(±12,2) anys, IMC de 27(±4,9) i EH de 5,9 kPa (±5,0). El Heckman's inverse Mills ràtio del subgrup de pacients amb biòpsia era de 0,23, p=0,343, descartant-se el biaix de selecció. El valor d'EH de 9,1 kPa va ser el que va proporcionar una millor precisió discriminatòria pels estadis de fibrosi ≥F2, AUROC de 77,46% (IC del 95%: 0,71 a 0,83). Un total de 343 (5,45%) pacients tenien EH per sobre de 9,1 kPa. La ràtio de cost-efectivitat incremental (RCEI) mitjana de l'estratègia d'estratificació de riscos va oscil·lar entre 4.034€ (IC del 95%: 4.531-2.853€) per anys de vida ajustat per qualitat (AVAC) i 849€ (IC del 95%: 1.533-603€) per AVAC, en funció de la població destinatària.

**Conclusions:** Un elevat percentatge de subjectes aparentment sans van presentar un augment de la rigidesa hepàtica, el 9% i el 3,6% amb uns punts de tall de 6,8 kPa i de 9,0 kPa, respectivament. El FGNA va ser la troballa més freqüent a la biòpsia hepàtica

i la SM va ser un factor predictiu independent d'augment de la rigidesa hepàtica. El punt de tall més precís de rigidesa hepàtica per a fibrosi significativa va ser 9,2 kPa. L'elastografia transitòria apareix com un bon mètode no invasiu per la detecció de fibrosi hepàtica en la població general. Un algorisme basat en l'avaluació de fibrosi hepàtica utilitzant  $EH \geq 9.2$  kPa en subjectes amb factors de risc de FGNA i  $FLI \geq 60$  permet la detecció de la majoria de subjectes amb fibrosi i redueix notablement el nombre de pacients a cribar. El FLI és el millor marcador serològic per al diagnòstic de FGNA. L'EH és significativament superior als marcadors serològics per al diagnòstic de fibrosi. En pacients amb consum abusiu d'alcohol, l'existència de SM s'associa a un increment notable del risc de fibrosi hepàtica significativa. Aquest increment del risc pot estar relacionat amb l'activitat inflamatòria sistèmica característica de la SM. Aquesta interacció entre consum d'alcohol i SM s'ha de tenir en compte especialment per a l'adopció de mesures preventives a la població general. Un cribratge mitjançant l'EH en poblacions amb factors de risc és una intervenció cost-efectiva en els centres d'Atenció Primària.



## **INTRODUCCIÓ**





## **1. FETGE**

### **1.1. Definició i aspectes generals**

El fetge és l'òrgan intern més gran del cos humà, situat a la part superior dreta de la cavitat abdominal, just sota el diafragma i protegit per la caixa toràcica, constitueix al voltant del 2% del pes d'un adult humà (1). Una de les característiques particulars del fetge es la seva elevada irrigació. A diferència de qualsevol altre òrgan, aquest presenta dues fonts d'irrigació. D'una banda, obté sang oxigenada a través de l'artèria hepàtica (ramificació de l'aorta), la qual contribueix en un 20-25% del flux i proporciona al voltant del 50% de l'oxigen. D'altra banda, la vena porta la qual prové de les venes dels òrgans de la cavitat abdominal com el pàncrees, intestins, estómac i melsa, contribueix en un 75-80% del flux total i aporta l'oxigen necessari restant, diferents nutrients resultants de l'absorció intestinal i diverses hormones que tenen efecte sobre el metabolisme hepàtic (2). La sang que abandona l'òrgan és canalitzada per la vena hepàtica que s'aboca a la vena cava inferior, la qual arriba finalment al costat dret del cor per ser bombejada cap als pulmons.

Un dels trets característics i únics d'aquest òrgan és la seva elevada capacitat de regeneració i restauració de la seva massa original en resposta a diversos insults. En comparació amb altres teixits capaços de regenerar-se, com la medul·la òssia o la pell, la regeneració hepàtica no depèn d'un grup de cèl·lules mare sinó que es produeix per la proliferació de totes les cèl·lules madures romanents (3,4). Aquest poder de regeneració li permet metabolitzar tot tipus d'agents tòxics sense veure's afectat de forma permanent i així poder eliminar-los de l'organisme. Diversos models animals s'han usat per tal d'aclarir els mecanismes del procés regeneratiu (5,6); malgrat tot, encara no coneixem el mecanisme exacte pel qual les cèl·lules hepàtiques repoblen el teixit després del dany (7).

### **1.2. Estructura hepàtica**

A nivell macroscòpic el fetge està format per dos lòbuls hepàtics principals, l'esquerre i el dret, dividits per un lligament falciforme. Al seu torn, el lòbul dret es subdivideix posterior i inferiorment en dos de més petits, anomenats lòbuls quadrat i caudat, respectivament (figura 1) (2).

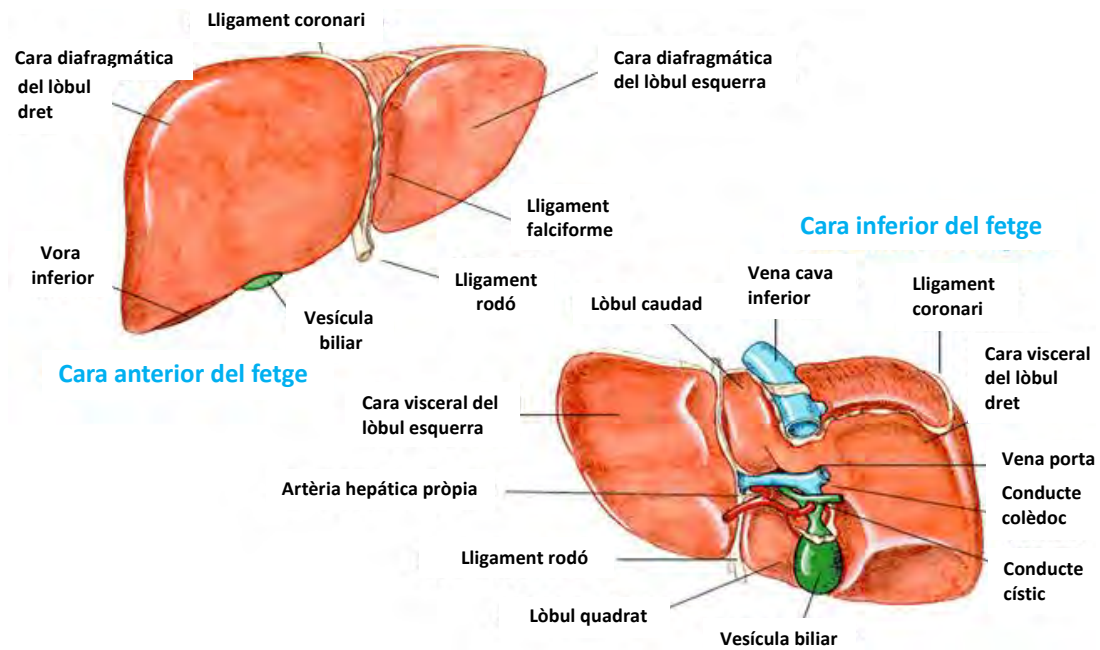


Figura 1. Visió anterior i posteroinferior del fetge. Imatge modificada i adaptada de McCiskey<sup>2</sup>.

A nivell microscòpic, aquest òrgan està constituït bàsicament per sis tipus cel·lulars, essent els hepatòcits, les cèl·lules hepàtiques estrellades, les cèl·lules de Kupffer i les cèl·lules sinusoïdals les poblacions cel·lulars més rellevants. En concret, els hepatòcits representen al voltant del 60% de la població cel·lular total i ocupen el 80% del volum del fetge (2,8). Pel que fa a la seva arquitectura, el fetge està compost per milers de petites unitats hexagonals funcionals, conegudes com a lobels hepàtics, les quals estan formades per làmines fenestrades d'hepatòcits que es disposen en forma radiada al voltant d'una vena central anomenada vena centrelobel·lar. Cada lobel hepàtic està separat dels altres mitjançant teixits connectius (septes interlobel·lars) i, en els seus vèrtexs, es troben les tríades portals, formades per ramificacions de la vena porta, l'artèria hepàtica i el conducte biliar (1) (figura 2). Fisiològicament, la sang circula des de la tríada portal i drena a la vena centrelobel·lar a través d'uns capil·lars fenestrats anomenats sinusoides, els quals estan constituïts per les cèl·lules endotelials sinusoïdals hepàtiques que conformen un endoteli discontinu i permeable. Gràcies a aquesta paret sinusoïdal fenestrada, la sang pot estar en contacte directe amb les membranes dels hepatòcits. L'estret espai existent (10-15 µm) entre la paret sinusoïdal i la membrana hepatocitària s'anomena espai de Disse i, a més a més de permetre l'intercanvi metabòlic entre el plasma sanguini i els hepatòcits, és on es troba un altre tipus cel·lular de gran importància com són les cèl·lules hepàtiques estrellades o també anomenades cèl·lules d'Ito (9,10).

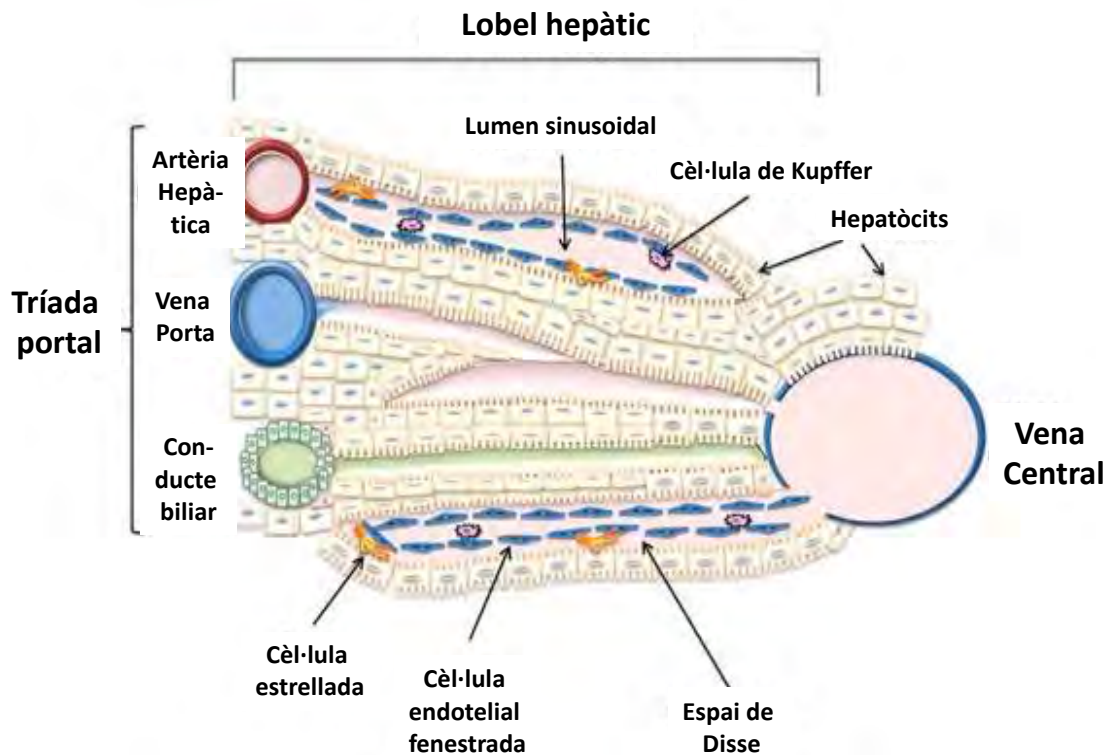


Figura 2. Visió esquemàtica de l'estructura hepàtica: detall d'un lòbul hepàtic i del sinusoides. Figura adaptada de Gandhi et al<sup>1</sup>.

### 1.3. Funcions del fetge

Al fetge se li han atribuït més de 500 funcions metabòliques (11), essent la síntesi, detoxificació i emmagatzematge les tres més rellevants. De fet, aquesta elevada activitat metabòlica permet el manteniment de l'homeòstasi i representa el 20-30% del consum d'oxigen total de l'organisme. En concret, el tipus cel·lular que exerceix la majoria d'aquestes funcions característiques de l'òrgan és l'hepatòcit. Entre les seves funcions més rellevants cal mencionar:

#### 1.3.1. Metabolisme de les proteïnes:

El fetge és el principal lloc per a la síntesi d'una gran quantitat de proteïnes tant per ús hepàtic com extrahepàtic. De fet, amb l'excepció de les immunoglobulines, les quals són sintetitzades per les cèl·lules plasmàtiques, les proteïnes secretades pels hepatòcits inclouen totes les proteïnes majoritàries del plasma com seria l'albumina, la transferrina o les lipoproteïnes. Alhora, també sintetitza les proteïnes de fase aguda, les quals juguen un paper cabdal en la defensa de l'organisme davant d'infeccions o d'insults severos (2,12); entre elles cal destacar el fibrinogen, la proteïna C reactiva i l'haptoglobina. També es produeixen alguns dels factors de coagulació com el factor II (protrombina),

el factor VII, el factor IX i el factor X, així com la proteïna C i la proteïna S, les quals actuen per inactivar les formes actives del factor VIII i els complexos del factor V.

### **1.3.2. Homeòstasi de la glucosa:**

La glucosa és la principal font d'energia pel cervell, múscle i ronyons, i és precisament el fetge l'òrgan que pot emmagatzemar i modular la disponibilitat dels nutrients ingerits d'acord amb els requisits dels òrgans perifèrics. Així doncs, la regulació de la concentració de glucosa en sang és un dels processos més cuidadosament monitoritzats i regulats pel cos. En resposta a les hormones provinents dels illots pancreàtics, els hepatòcits poden sintetitzar glucogen a partir de glucosa o metabolitzar-lo per tal de produir glucosa (glucogenòlisi) (13). Alhora, aquest tipus cel·lular pot també sintetitzar glucosa a partir d'hidrats de carboni com la fructosa o per mitjà d'aminoàcids (gluconeogènesi) (12).

### **1.3.3. Metabolisme dels lípids:**

El fetge també es troba involucrat en la síntesi de novo d'àcids grassos i triglicèrids, així com del colesterol, entre d'altres (14). Així mateix, en resposta a nivells baixos de glucosa, també és capaç de sintetitzar cossos cetònics (cetogènesi) per a produir energia gràcies al catabolisme dels àcids grassos (15). Finalment, i com molts altres tipus cel·lulars, les cèl·lules hepàtiques també poden oxidar àcids grassos com a font d'energia a través de la  $\beta$ -oxidació (14).

### **1.3.4. Metabolisme dels xenobiòtics:**

El fetge s'encarrega, també, de metabolitzar tot tipus de compostos potencialment nocius per l'organisme. Aquest procés de detoxificació sovint es divideix en tres fases clarament diferenciades: la modificació de l'agent tòxic (introduint grups polars a la molècula), la seva conjugació a compostos polars i finalment, l'excreció (16,17).

### **1.3.5. Síntesi de bilis:**

La bilis és una substància contínuament sintetitzada pels hepatòcits a partir del colesterol i que s'emmagatzema a la vesícula biliar durant els períodes interdigestius. És alliberada al duodè després de la ingesta d'aliments i permet emulsionar els àcids grassos a l'intestí prim per tal de facilitar-ne l'absorció (10,18).

### 1.3.6. Altres funcions a destacar:

- Emmagatzematge de vitamines i minerals.
- Manteniment de l'equilibri dels electròlits i de l'aigua.
- Ajuda a la regulació de la temperatura corporal.

## 2. Principals hepatopaties cròniques

El consum nociu d'alcohol, les hepatitis cròniques per virus B (VHB) i C (VHC) i el fetge gras no alcohòlic (FGNA) relacionat amb la síndrome metabòlica (SM), a la vegada lligada a l'obesitat i a la diabetis mellitus tipus 2 (DM2), són les principals causes d'hepatopatia crònica (HC); i per tant les responsables d'un augment cada vegada més accelerat de casos de cirrosi hepàtica i hepatocarcinoma (HCC), en el nostre entorn i a la resta d'Europa (figura 3).

La seva prevenció i detecció precoç juntament amb la instauració de mesures terapèutiques apropiades pot evitar l'evolució d'aquestes malalties cap a formes més greus, reduir la morbimortalitat dels pacients i, en definitiva, reduir la despesa econòmica pel sistema sanitari. Les malalties hepàtiques cada vegada són més prevalents i caldrà posar en marxa programes de prevenció, mitjançant mesures de detecció, al igual que existeixen per altres patologies, per tal de poder-les detectar i evitar que aquestes evolucionin a formes més severes.

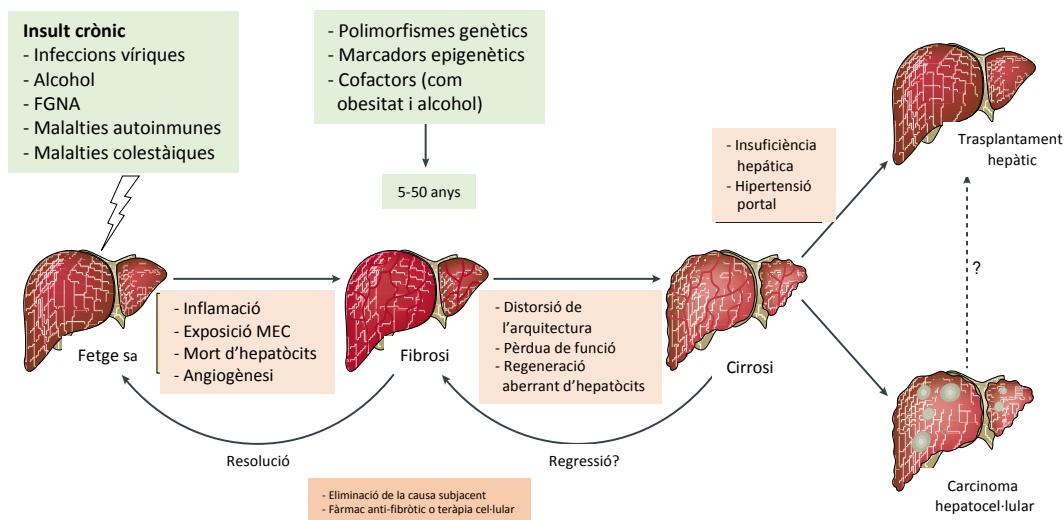


Figura 3. Principals malalties hepàtiques cròniques i la seva evolució (adaptada de Schuppan i Afdhal<sup>19</sup>)

## 2.1. Hepatopatia alcohòlica

El consum excessiu d'alcohol és un problema mèdic de primera magnitud amb importants implicacions socioeconòmiques. El consum excessiu d'alcohol és responsable de moltes malalties, i a més, està relacionat amb actes de violència, accidents de trànsit, laborals i domèstics, així com amb l'absentisme laboral. A Europa, el consum excessiu d'alcohol és la causa més freqüent de malalties hepàtiques cròniques i de cirrosi (20). Es calcula que 52.000 morts van ser causades per cirrosi induïda per l'alcohol a Europa occidental l'any 2010, això representa un 1,3% de totes les morts i 9,9% de les defuncions relacionades amb l'alcohol (21). L'alcoholisme també és responsable de 4,6 anys perduts per mort prematura o incapacitat (DALYs) (22). La cirrosi alcohòlica és una causa molt important de mortalitat a tot el món. Dades de l'estudi Global Burden of Disease indiquen que al món van morir 1.300.000 persones per cirrosi durant l'any 2013, de les quals gairebé un 30% van ser degudes a l'alcohol, sense comptar uns 100.000 casos de HCC que van ocórrer sobre cirrosi alcohòlica (23). La cirrosi alcohòlica és responsable del 0,9% de les defuncions que es produïxen en el món (1,2% en homes i 0,7% en les dones) i del 0,6% del total de DALYs (0,8% en homes i 0,4% en dones). La prevalença i mortalitat associada a la cirrosi alcohòlica va en augment en diversos països europeus com el Regne Unit, Hongria, Polònia i els països bàltics, mentre que la seva prevalença sembla haver-se estabilitzat en països en els quals la freqüència de la malaltia era històricament molt elevada, com Itàlia, França i Espanya (24) (figura 4). El pronòstic per als pacients amb cirrosi induïda per l'alcohol és molt pobre, amb una taxa de mortalitat del 71% als 5 anys, del 84% als 10 anys i del 90% als 15 anys (25).

El primer any després del diagnòstic, la cirrosi induïda per l'alcohol exposa els pacients a un risc del 20% d'ascites descompensada, el 6% de sagnat gastrointestinal (a causa de la hipertensió portal) i el 4% d'un episodi d'encefalopatia hepàtica (26). El risc de HCC oscil·la entre el 7% i el 16% als 3 anys i augmenta fins al 29% als 5 anys (27). Per tant, l'estratègia ideal per la reducció de la morbimortalitat de la cirrosi hepàtica i l'hepatocarcinoma relacionats amb l'alcohol seria identificar els pacients en fases inicials de la inflamació crònica del fetge, la qual cosa permetria incidir de manera efectiva en la seva història natural i aturar o retardar la seva evolució. La major dificultat fins al moment actual, ha estat el fet de no disposar de mitjans efectius de cribratge per detectar la malaltia hepàtica crònica alcohòlica en fases poc avançades (28). És per això que, en aquesta població de risc, es recomana el diagnòstic precoç de la fibrosi i la

cirrosi relacionats amb l'alcoholisme, de manera que es pot iniciar la prevenció primària o secundària de les complicacions de la cirrosi (28,29).

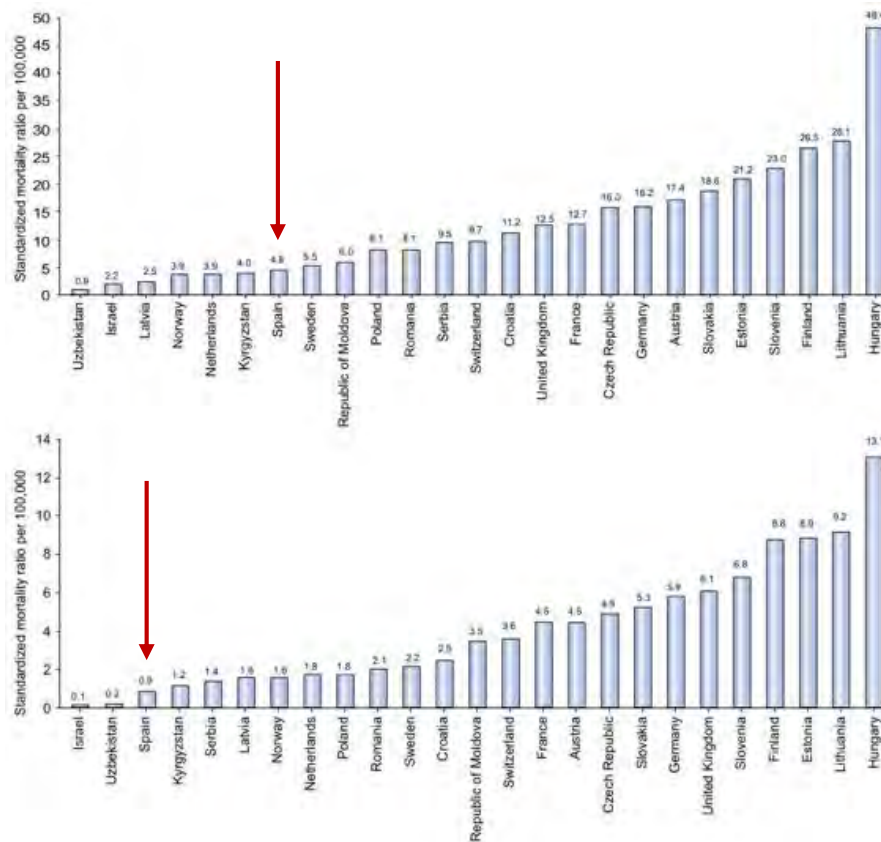


Figura 4. Mortalitat per malaltia hepàtica alcohòlica en països europeus. El gràfic de dalt entre els homes i el de baix entre dones (adaptada de Blanchier et al<sup>24</sup>)

Ara mateix el millor mètode per fer el diagnòstic d'hepatopatia alcohòlica (HA) és la biòpsia hepàtica (21,28,29). La biòpsia permet conèixer el tipus de lesió histològica, així com la intensitat de la inflamació, que ve determinada pel grau de fibrosi (30). Tot i això, la utilització de la biòpsia hepàtica en pacients amb sospita de malaltia poc avançada és baixa, entre d'altres motius per la reduïda acceptació dels pacients i el possible risc d'efectes adversos (31-33). En cas de sospita d'hepatitis alcohòlica la biòpsia hepàtica pot estar indicada, així com en el context d'assajos clínics (21,29). Tantmateix, en la pràctica clínica habitual ens trobem amb pacients amb una alteració lleugera/moderada de les transaminases que en molts casos no justifica "per se" la pràctica de la biòpsia però, a la vegada, desconexem el grau de fibrosi hepàtica que pot existir. En aquest sentit, tal i com s'ha dit, cada vegada s'utilitzen més els mètodes diagnòstics no invasius per la fibrosi hepàtica, ja siguin serològics o elastogràfics, per evitar la necessitat de realitzar una biòpsia i permetre fer precoçment el diagnòstic i tractament de la HA (34).



La majoria dels marcadors serològics han estat avaluats en pacients amb hepatopatia crònica VHC, mentre que hi ha menys informació en pacients amb HA. Aquests marcadors inclouen l'àcid hialurònic i els índexs Fibrotest (35-40). Vista la capacitat que tenen pel diagnòstic de la fibrosi hepàtica, la seva determinació i validació poden ser útils en els pacients amb HA. No obstant això, igual que passa en altres etiologies de malaltia hepàtica crònica, els marcadors serològics semblen ser útils per diagnosticar els graus extrems; sigui absència de fibrosi, sigui fibrosi intensa o cirrosi, mentre que la seva utilitat sembla molt limitada en els graus intermedis de fibrosi (28,41,42).

L'elastografia hepàtica transitòria (EH) és un mètode basat en el mesurament de l'elasticitat hepàtica, que estima la quantitat de fibrosi present en el fetge, això permet detectar de forma no invasiva l'existència d'una fibrosi hepàtica significativa abans que el pacient desenvolupi una cirrosi o que la cirrosi produeixi símptomes (43-45).

L'EH s'utilitza extensament per avaluar la fibrosi en pacients amb hepatopatia crònica VHC, situació en la qual s'han establert els punts de tall per al diagnòstic tant de fibrosi significativa com per la cirrosi hepàtica. L'elastografia també s'està utilitzant en el diagnòstic de fibrosi en altres etiologies de malaltia hepàtica crònica, si bé encara no s'han definit els punts de tall amb absoluta precisió. En el cas concret de l'HA no són molts els estudis que s'han dut a terme i no hi ha unanimitat sobre quins són els millors punts de tall per al diagnòstic de fibrosi significativa i de cirrosi (46-48). Això pot estar influenciat per diversos factors. En concret, en els pacients alcohòlics amb nivells sèrics d'aspartat aminotransferasa (AST) >100 U/l el valor de l'EH ha d'interpretar-se amb precaució a causa de la possibilitat que estigui augmentat com a conseqüència d'esteatosi i/o inflamació, en lloc de fibrosi, per l'existència d'una esteatohepatitis alcohòlica (49). També el consum recent d'alcohol pot elevar els valors de l'EH, possiblement a conseqüència de l'efecte vasodilatador de l'alcohol (50). Per contra, l'abstinència pot reduir de forma moderada els valors d'EH (51). Malgrat tot això, els diferents estudis mostren una acceptable bona correlació entre la intensitat de la fibrosi i el valor de la rigidesa hepàtica (RH). El valor de RH que presenta una millor precisió per al diagnòstic de cirrosi és de 12,5 kPa, mentre que per al diagnòstic de fibrosi significativa és de 8 kPa (28,42,46,52).

Per regla general, l'existència d'una hepatopatia en pacients amb consum excessiu d'alcohol atesos en Atenció Primària se sospita quan es detecta una alteració de les proves hepàtiques, en general les transaminases, AST i/o alanino aminotransferasa (ALT). El diagnòstic de la malaltia hepàtica en fases precoces de la seva història natural permet aturar-ne la progressió, sempre i quan els pacients abandonin el consum

d'alcohol (21). En aquestes etapes precoces existeix un grau moderat de fibrosi o, en alguns casos, una cirrosi inicial, el que permet frenar la progressió de la malaltia, i fins i tot revertir-la, cosa que no sempre és possible si la malaltia es diagnostica en fases més avançades quan ja existeix hipertensió portal i/o insuficiència hepàtica.

No obstant, és conegut que les proves de funció hepàtica no estan sempre alterades en pacients amb HA i, a més, l'alteració de les proves hepàtiques i el grau d'evolució de la malaltia no sempre es correlacionen. En realitat, alguns estudis indiquen que l'evolució de la malaltia sembla dependre més del grau de fibrosi existent en el moment del diagnòstic que no pas de l'alteració de les proves de funció hepàtica (31). Per tant, és possible que pel que fa a l'HA l'estimació de la fibrosi constitueixi un millor enfocament diagnòstic que només l'avaluació de les proves hepàtiques "clàssiques".

## **2.2. Hepatitis víriques**

Les hepatitis virals cròniques suposen més del 90% de totes les hepatitis cròniques, essent els que poden produir una hepatopatia crònica els virus B, C i D. Els pacients que pateixen aquestes patologies solen estar asimptomàtics i generalment es descobreixen a l'estudiar la presència d'una hipertransaminasèmia. Totes les hepatitis virals cròniques comparteixen característiques anatomopatològiques, i el seu estudi serveix per classificar-les en graus d'afectació segons la presència de fibrosi (24).

L'hepatitis crònica VHB afecta entre el 0,5-0,7% de la població europea i s'ha estimat que en l'última dècada la prevalença d'hepatitis crònica VHC ha estat del 0,13 al 3,26% (24).

### **2.2.1. Hepatopatia crònica per VHB**

A nivell mundial, l'hepatitis viral va a ser responsable d'1,34 milions de morts durant l'any 2015, xifra tan alta com la de la tuberculosi (1,37 milions) i superior a la de la infecció per virus de la immunodeficiència humana (VIH) (1,06 milions) i la malària (0,44 milions). El 96% d'aquestes morts van ser degudes a complicacions de l'hepatitis crònica, i la majoria (66%) va ser causada pel VHB (53) (figura 5).

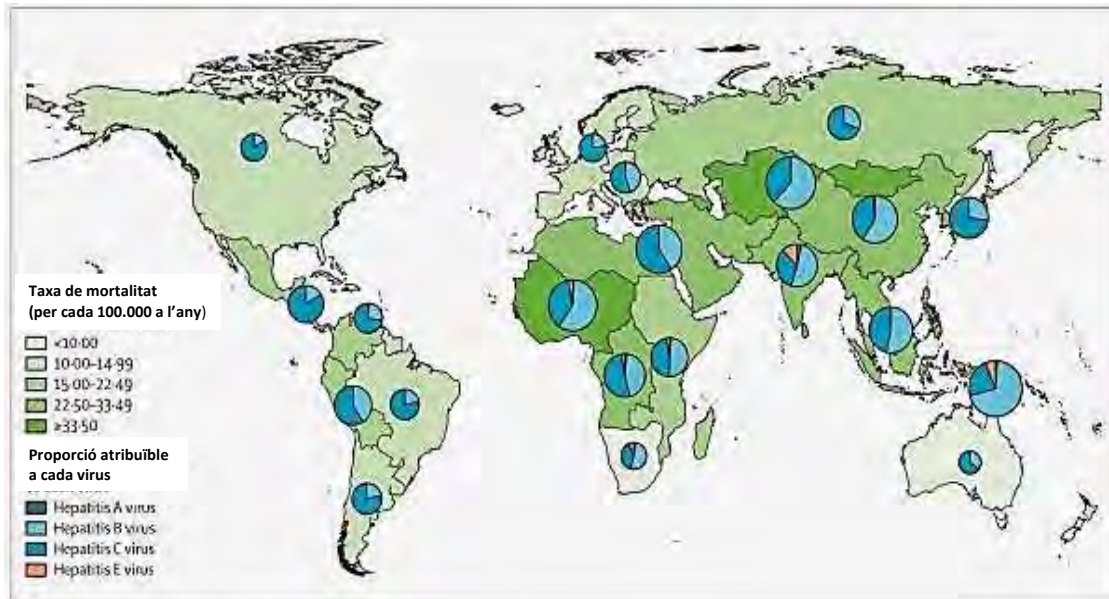


Figura 5. Mortalitat per malaltia hepàtica crònica VHB (color blau cel). (adaptada de WHO<sup>53</sup>)

La prevalença mundial estimada de la infecció crònica VHB canvia entre països. Així, durant el 2016 va ser del 3,5%, amb 257 milions de persones infectades (54). La regió del Pacífic Occidental (que inclou 37 països) segons l'OMS té la major càrrega de malaltia (6,2%), seguida de la regió africana (6,1%) (55).

En base a la detecció de l'antigen de superfície del VHB (HBsAg) en la població general, la prevalença a Europa va del 0,1 al 0,7% excepte a Romania i Grècia, que és del 5,6% i 3,4%, respectivament (24). La prevalença en adults joves a Espanya, de la mateixa manera que en altres països desenvolupats, és baixa; havent dades que suggereixen que hi ha una reducció en la incidència anual de VHB relacionada amb les campanyes de vacunació (53), a més de l'optimització del cribratge dels donants de sang i la millora dels processos d'esterilització de productes i derivats sanguinis. El HBsAg és el marcador serològic d'infecció crònica VHB, i s'utilitza per conèixer l'endemicitat del VHB en la població general en una àrea geogràfica determinada. La transmissió del VHB es produeix fonamentalment per via parenteral i sexual, no estant present en la femta i per tant no hi ha via de transmissió fecal-oral. Els nounats de dones amb infecció activa pel VHB s'infecten en el moment del part, probablement per contacte de les mucoses amb sang contaminada (transmissió vertical). En alguns països, una forma d'extensió de la malaltia està relacionada amb la immigració de persones procedents d'àrees endèmiques on la malaltia és molt prevalent (55). Com més aviat s'adquireix la infecció pel VHB, més alta és la probabilitat que esdevingui una malaltia crònica (56). La transmissió horitzontal es produeix entre persones que tenen una conducta sexual d'alt

risc, com el sexe anal i vaginal sense protecció, i les persones que comparteixen dispositius injectables contaminats, presentant un major risc d'infecció per VHB. D'altra banda, l'hepatitis post-transfusional és molt poc probable a causa de l'exclusió dels donants HBsAg positius, excepte que aquests nivells hagin estat tan baixos que no s'hagin pogut detectar amb les proves convencionals.

Al voltant del 10-15% de les persones amb infecció crònica VHB estan coinfectades amb el VHC (majoritàriament persones infectades per l'ús de drogues per via parenteral) i el 5% amb el virus de l'hepatitis D. El virus de l'hepatitis D requereix la presència d'una infecció per VHB, i la prevalença de la infecció pel virus de l'hepatitis D en portadors crònics de VHB canvia àmpliament segons la regió geogràfica (57).

Fa aproximadament tres dècades, un dels majors avenços en el maneig de la infecció crònica VHB va ser l'aprovació de la vacuna contra l'hepatitis B. Des de llavors, s'ha aconseguit un progrés espectacular en la comprensió de la història natural de la infecció crònica VHB, així com avenços en el tractament antiviral. L'any 2016, l'objectiu de l'Estratègia Global de l'OMS per a les hepatitis virals va ser poder-les eliminar, inclosa l'hepatitis B, com a amenaça per a la salut pública l'any 2030 (58).

El 1981, va ser autoritzada als Estats Units la primera vacuna contra l'hepatitis B derivada del plasma. Va ser reemplaçada el 1986 i 1989 per vacunes recombinants contra el VHB (59). La pauta d'administració de la vacuna contra el VHB (dosi en el moment del naixement més dues dosis addicionals de reforç) indueix quantitats protectores d'anticossos anti-HBs en més del 95% dels lactants vacunats (55). L'OMS recomana que tots els nadons rebin la primera dosi d'una vacuna monovalent contra l'hepatitis B tan aviat com sigui possible després del naixement, preferiblement dins les primeres 24 hores, per prevenir la transmissió perinatal del VHB. De fet, les dades observacionals també suggereixen que la vacunació contra el VHB és més efectiva si s'administra en les 24 hores posteriors al naixement, però segueix sent efectiva, tot i que menys, si s'administra després d'aquest temps (60).

A partir de 2015, la prevalença global de HBsAg ha disminuït com a resultat dels programes de vacunació a tot el món del 4,7% al 1,33% en nens menors de 5 anys; però, la prevalença segueix sent alta en persones no vacunades (53). La vacunació contra el VHB dels nadons és va implementar a 186 països i es va estimar que la cobertura amb tres dosis de la vacuna contra el VHB era del 84 % a la fi de 2016 (figura 6).

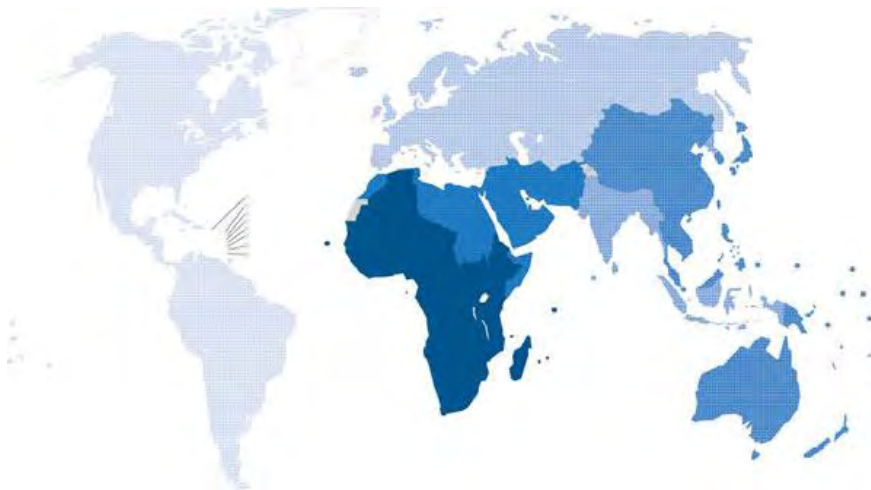


Figura 6. Incidència acumulada de la infecció crònica VHB el 2015 (prevalença d'HBsAg en nens menors de 5 anys) després de l'ús de la vacuna segons l'OMS: al voltant de l'1,3% dels menors de 5 anys han desenvolupat una infecció crònica per VHB (color blau). (WHO<sup>53</sup>)

En aquest sentit, degut a la implantació de les campanyes de vacunació hi ha hagut una reducció de la incidència, acompanyat d'un descens en la prevalença anual del VHB en els països europeus en general i en particular en el nostre país (61,62). No obstant això, manquen encara dades epidemiològiques fiables sobre el VHB per al desenvolupament de polítiques per la seva detecció, prevenció i tractament.

La importància de l'hepatopatia crònica VHB és molt significativa, ja que s'estima que entre el 20%-30% dels pacients amb hepatitis crònica VHB evolucionen a cirrosi hepàtica (63), sent més probable que això passi en pacients joves els quals pateixen una reactivació després de seroconversió prèvia, o quan es produeix una sobreinfecció per un altre virus hepatotrop o si la infecció està provocada per un virus mutant (64). A més, aquesta malaltia presenta un risc del 25% de desenvolupar un HCC, i d'aquesta manera el VHB és el responsable del 10-15% de casos de HCC (65). La infecció per VHB és el responsable d'una taxa de mortalitat del 2,7 per cada 100.000 habitants per any a Espanya (66).

El VHB de vegades s'ha anomenat "l'assassí silenciós" perquè els adults infectats sovint romanen sense diagnosticar i per tant no es tracta fins que la malaltia està ja en una fase molt avançada (67). Tot i la vacunació i la disminució de la incidència, la infecció per VHB segueix sent un problema de salut pública, no només per la seva naturalesa silenciosa, sinó també a causa de les seves complicacions associades.

S'ha demostrat que l'hepatitis crònica pot evolucionar amb un grau més o menys important de fibrosi hepàtica, i que en molts casos pot acabar desenvolupant una cirrosi. Per tant, és important determinar el grau de fibrosi per tal d'identificar els pacients que són propensos a evolucionar cap a formes greus, i poder prendre decisions de tractament (64).

La fibrosi hepàtica és un procés patològic d'acumulació de teixit connectiu a la matriu extracel·lular, degut a diversos factors patògens, incloent la infecció pel VHB. La fibrosi hepàtica es produeix en estadis moderats o avançats de l'hepatopatia crònica VHB. Els estudis longitudinals duts a terme en pacients amb hepatopatia crònica VHB sense tractament, van observar una incidència acumulada als 5 anys de desenvolupament de cirrosi d'entre el 8% i el 20%, després del diagnòstic de fibrosi hepàtica (68). Es calcula una taxa de supervivència d'entre el 14% i el 35% als 5 anys en els pacients amb cirrosi descompensada sense tractar (68). A més, la incidència anual de HCC en pacients amb cirrosi per el VHB oscil·la entre el 2% i el 5% (69). La cirrosi hepàtica i el HCC són els responsables de 0,5-1 milions de morts per any representant una forta despesa econòmica (69).

Com que la fibrosi hepàtica és un procés reversible, el diagnòstic ràpid i el tractament precoç poden retardar o fins i tot prevenir el desenvolupament de cirrosi i HCC en pacients amb VHB. Per aquest motiu, és molt important disposar d'eines diagnòstiques per tal d'avaluar l'estadi de fibrosi i, alhora, avaluar la progressió o la regressió de la mateixa. La millor prova per fer el diagnòstic i seguiment és la biòpsia hepàtica, però tal i com s'ha comentat, i ho veurem més endavant quan es comentin les proves diagnòstiques de la fibrosi hepàtica, té una sèrie de limitacions que fa que s'utilitzi en pacients de difícil diagnòstic o que presentin una mala evolució (70). És per això que, a l'igual que en l'HA, cada vegada més s'utilitzen els mètodes diagnòstics no invasius, ja siguin elastogràfics o serològics. L'EH és un bon mètode, si bé en el cas de l'hepatopatia per VHB no estan establerts els punts de tall de diagnòstic per la fibrosi significativa i cirrosi com en el cas de l'hepatopatia crònica VHC. Malgrat això, és una prova molt útil tant per al diagnòstic com per la monitorització de la progressió de la fibrosi (71). També, i com s'ha dit amb anterioritat, la determinació dels marcadors serològics, ha estat reconeguda com un mètode no invasiu simple i econòmic per avaluar la fibrosi hepàtica. Tot i que s'han desenvolupat diversos models, aquests disten molt de ser òptims i tenen un valor clínic limitat (64,72). Entre aquests marcadors, els més emprats són l'índex FIB-4 (40) i APRI (39) que s'utilitzen àmpliament per avaluar els pacients amb hepatopatia crònica VHC, però el seu valor per avaluar els pacients amb infecció crònica per VHB

segueix sent controvertit i calen més estudis amb un nombre important de pacients per poder aclarir els punts de tall diagnòstics de fibrosi (73-75).

### 2.2.2. Hepatopatia crònica virus C

La infecció pel VHC és una de les principals causes de malaltia hepàtica crònica arreu del món (76). La història natural a llarg termini de la infecció per VHC és molt variable. La lesió hepàtica pot variar des de canvis histològics mínims fins fibrosi i cirrosi amb o sense HCC. Hi ha aproximadament 71 milions de persones amb infecció crònica arreu del món (77,78), moltes de les quals desconeixen la seva infecció, amb importants variacions segons l'àrea geogràfica (figura 7).

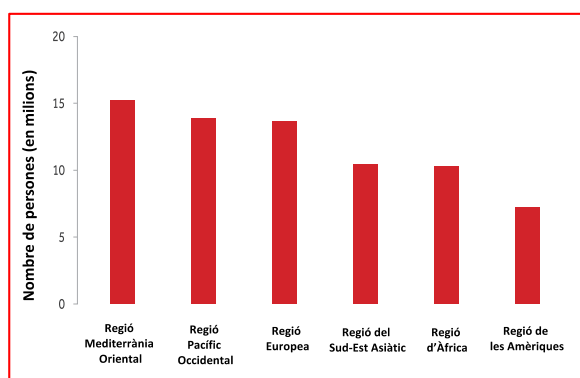


Figura 7. Prevalença de la infecció pel VHC (ARN VHC positiu) en la població general, segons l'OMS<sup>77</sup>, 2015: 71 milions de persones viuen amb VHC a tot el món.

L'atenció clínica als pacients amb malaltia hepàtica relacionada amb el VHC ha avançat considerablement durant les últimes dues dècades, gràcies a una millor comprensió de la fisiopatologia de la malaltia i al desenvolupament de procediments de diagnòstic, així com millores en la teràpia i la prevenció. A Europa, un nombre significatiu de persones van adquirir el VHC durant les dècades dels anys 1970 i 1980 abans que s'identifiqués el virus i es disposés d'una prova diagnòstica. Des de llavors, la transmissió de la infecció s'ha reduït considerablement i ara es concentra principalment en els usuaris de drogues per via parenteral. No obstant això, la malaltia té un curs prolongat en el temps, ja que els individus desenvolupen una cirrosi en 20 anys (79), de manera que l'impacte de la malaltia en els països d'Europa es troba probablement en el seu punt més àlgid.

Igual que en la infecció per VHB, manquen dades epidemiològiques fiables sobre el VHC a Europa. La taxa d'incidència anual s'estima en 6,19 casos per cada 100.000 habitants i la prevalença, estimada a partir d'anticossos sèrics, varia entre el 0,13% i el 3,26% (78) (figura 8). En els consumidors de drogues per via parenteral les prevalences

són força més elevades i varien del 50% a Xipre (80), el 59,8% a França (81), el 75% dels admesos per a la desintoxicació d'opiacis a Alemanya (82) i el 83,2% a Itàlia (83).

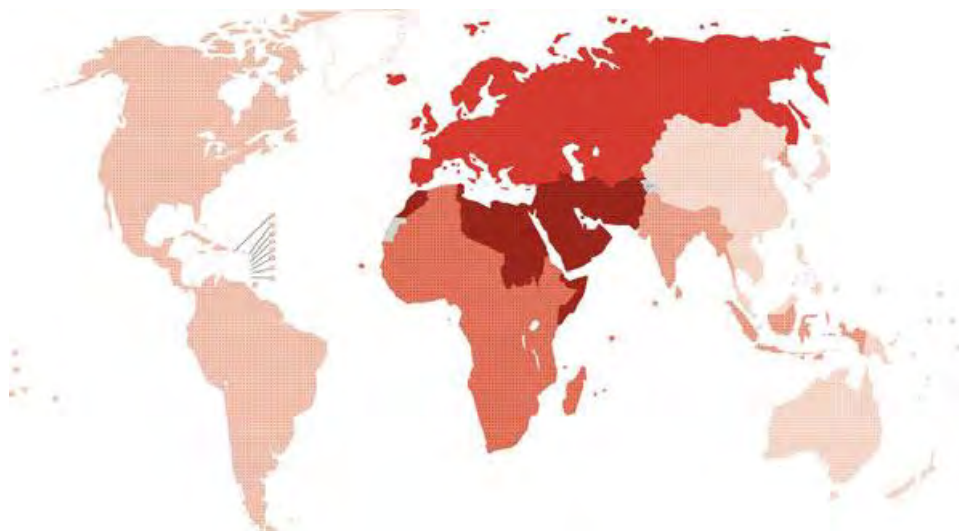


Figura 8. Incidència de la infecció pel VHC a la població general segons l'OMS, 2015: 1,75 milions de noves infeccions el 2015 (adaptada de Freeman et al.<sup>78</sup>)

Un 85% dels pacients infectats desenvolupen una infecció crònica, i d'aquests un 10-20% progressen a cirrosi (84,85). Al voltant del 7% dels pacients amb cirrosi desenvolupen un HCC (85,86) i el VHC és un factor de risc important per a aquest tipus de càncer (64). A més, la cirrosi hepàtica per VHC és també la principal indicació de trasplantament de fetge. D'altra banda, els pacients amb VHC mostren una major morbiditat, altes taxes d'ingrés hospitalari (87) i una taxa de mortalitat tres vegades més gran que la de la població general (88). A França la mortalitat deguda al VHC és de 2,5 morts per 100.000 habitants (95% per cirrosi i un 33% amb HCC) (89). En el nostre país, la taxa de mortalitat deguda a la infecció pel VHC és 11,25 per 100.000 habitants (66) (figura 9).

Diversos anàlisis de costos de la malaltia, incloses les seves complicacions, i tenint en compte el preu dels tractaments en funció del genotip, mostren uns costos elevats (90) que en els darrers anys s'ha incrementat ostensiblement degut a l'aparició dels nous inhibidors (91,92). Si bé és cert que malgrat l'elevat cost d'aquests darrers fàrmacs, la seva eficàcia mesurada en la indeterminació de la presència del virus ha repercutit en una reducció important de la morbiditat associada a la malaltia (93). La introducció dels tractaments amb antivirals d'acció directa (AAD) ha revolucionat el tractament de la infecció pel VHC. S'han aconseguit taxes de curació de la infecció superiors al 95%,



amb tractaments de curta durada, excel·lent tolerància i aplicables a la pràctica totalitat dels pacients infectats (94).

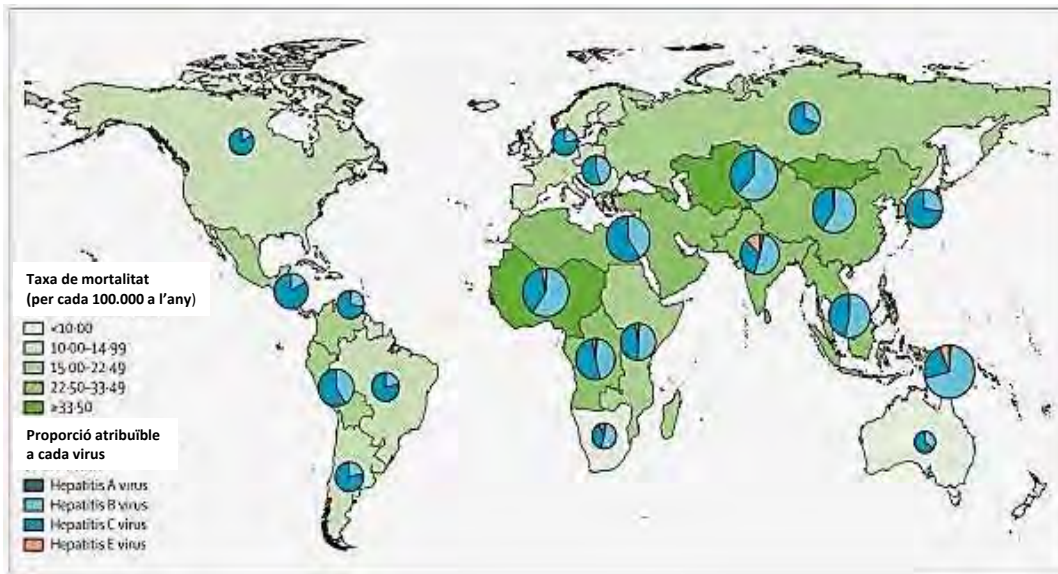


Figura 9. Mortalitat per malaltia hepàtica crònica VHC (color verd). (adaptada de WHO<sup>53</sup>)

La curació de la infecció o resposta viral sostinguda (RVS) es defineix com la negativització de la virèmia a la setmana 12 després del tractament. Aquesta RVS s'associa a una normalització de les proves de funció hepàtica i a una millora o desaparició de la necroinflamació i la fibrosi hepàtica en els pacients sense cirrosi. En els pacients amb cirrosi, la curació s'associa a una disminució, però no eliminació, del risc d'esdeveniments clínics relacionats amb l'HC (95).

L'avaluació pre-tractament ha d'incloure la valoració de la fibrosi hepàtica per mètodes no invasius. Aquesta valoració pot ser necessària per decidir la durada en usar algunes combinacions d'antivirals i és essencial identificar els pacients amb fibrosi avançada, que són els que requeriran seguiment a llarg termini un cop curats. En la majoria dels casos, si s'utilitzen combinacions pangènòtiques, no és necessària la determinació del genotip per decidir el tractament, però, pot ajudar a diferenciar reinfeccions de recidives i a conèixer l'epidemiologia de la infecció en escenaris concrets, per exemple, en brots d'hepatitis aguda (95,96).

És necessari avaluar la gravetat de la malaltia hepàtica abans de la teràpia. La identificació de pacients amb cirrosi (puntuació METAVIR F4) o fibrosi avançada en ponts (puntuació METAVIR F3) té una importància especial, ja que l'elecció del règim de tractament i el pronòstic post-tractament depenen de l'estadi de la fibrosi. No és

necessària l'avaluació de l'etapa de la fibrosi en pacients amb evidència clínica de cirrosi. Els pacients amb cirrosi han de ser avaluats per la hipertensió portal, incloent-hi l'estudi de varices esofàgiques. Els pacients amb fibrosi avançada i aquells amb cirrosi necessiten una vigilància post-tractament continuada per fer el despistatge de l'HCC cada 6 mesos. Atès que la fibrosi significativa pot estar present en pacients amb ALT repetidament normals, s'ha de fer una avaluació de la gravetat de la malaltia, independentment dels nivells d'ALT (95,96).

En hepatitis crònica VHC, cal utilitzar mètodes no invasius en lloc de biòpsia hepàtica per avaluar la gravetat de la malaltia hepàtica abans del tractament. La mesura de la rigidesa hepàtica mitjançant EH és el millor mètode per avaluar la fibrosi hepàtica i la presència d'hipertensió portal en pacients amb hepatitis crònica VHC. En aquesta hepatopatia s'han establert els punts de tall pel diagnòstic de fibrosi significativa F2 (>7,6 kPa), fibrosi en ponts F3 (>10 kPa) y cirrosi F4 (>13 kPa) (97-99). Cal tenir en compte els factors que poden afectar negativament el seu rendiment, com ara l'obesitat, els nivells d'ALT elevats o les proves post-prandials. També es poden aplicar biomarcadors de fibrosi ben establerts. Tant el mesurament de la RH com els biomarcadors tenen un bon rendiment en la identificació de cirrosi o l'exclusió de fibrosi, si bé el seu rendiment és menor en els graus intermedis de fibrosi (28). Una altra alternativa, a l'igual que en les hepatopaties anteriors, especialment en àmbits no especialitzats o bé quan no es disposa de l'EH, és la determinació dels marcadors serològics de fibrosi ja sigui l' APRI (39) o el FIB-4 (40). Aquests són fàcils de determinar, no tenen sobre costos i la informació que proporcionen és molt fiable. Cal destacar que no s'han d'utilitzar eines no invasives per avaluar l'etapa de fibrosi després del tractament, ja que no són d'utilitat en aquest context.

També es pot utilitzar la combinació de marcadors serològics i la mesura de la RH per tal de millorar la precisió de l'estadi de fibrosi. La combinació de biomarcadors de sang o la combinació de mesurament de la RH i una anàlisi de sang milloren la precisió (44,100).

Durant el tractament no és necessari realitzar visites mèdiques de seguiment, excepte en els pacients amb risc de complicacions per la seva malaltia hepàtica avançada o en els que hi pugui haver dubte del compliment terapèutic. Els pacients ja curats sense fibrosi o amb fibrosi lleu (F0-F2) poden ser donats d'alta una vegada que es confirmi la resposta viral sostinguda. Encara que és probable que en molts casos no sigui

necessari, fins que no disposem de més dades sobre factors predictius d'evolució, els malalts amb fibrosi avançada han de ser seguits de manera indefinida (95,96).

Des del 2014 s'han tractat més de 100.000 pacients a Espanya amb AAD, aconseguint la curació en la major part d'ells. Ara cal fer un pas més en diagnosticar aquells pacients que tenen el virus C i no ho saben, conegut com virus C ocult. Per això és necessària una estratègia nacional d'eliminació de la infecció pel VHC, que ha d'incloure un cribratge de la població i facilitar l'accés al tractament (95,96).

### **2.3. Fetge gras no alcohol·lic**

La malaltia hepàtica per dipòsit de greix o fetge gras no alcohol·lic (FGNA) es caracteritza per l'acumulació d'àcids grassos i triglicèrids en el citoplasma dels hepatòcits en pacients sense un consum de risc d'alcohol ( $\geq 21$  UBE -unitat de beguda estàndard- a la setmana en els homes i  $\geq 14$  UBE a la setmana a les dones) i sense altres causes de malaltia hepàtica crònica (101). El FGNA inclou una sèrie de lesions que van des de l'esteatosi simple, generalment amb un pronòstic benigne, passant per la esteatohepatitis amb canvis inflamatoris i un grau variable de fibrosi, fins a la cirrosi i el HCC (102). El FGNA s'associa als diferents components de la SM, especialment l'obesitat, DM2 i resistència a la insulina (RI), de manera que és considerat per molts autors com el component hepàtic de la SM. La prevalença del FGNA a la població occidental oscil·la entre el 20-30%, podent ser superior al 70% entre els subjectes obesos o amb DM2, mentre que la prevalença estimada d'esteatohepatitis no alcohol·lica (EHNA) és del 2-3% (103-105). La prevalença d'aquesta malaltia va en augment en paral·lel amb l'increment de l'obesitat i de la diabetis, veritables epidèmies del segle XXI. Així, en els estudis de Barcelona i Dyonisos, la prevalença de FGNA va ser del 26% (103,106). En un interessant estudi portat a terme a Grècia mitjançant l'estudi necròptic de pacients que van morir de malaltia isquèmica del cor o d'accident de trànsit, van trobar una prevalença de FGNA i EHNA del 31% i 40%, respectivament, després de l'exclusió de malaltia HC coneguda (107). S'ha publicat una metaanàlisi sobre 86 estudis que ha englobat un total de 8 milions i mig de persones procedents de 22 països i la prevalença global, tenint en compte qualsevol mètode diagnòstic emprat (analític, ecogràfic, histològic), va ser del 25% (108) (figura 10).

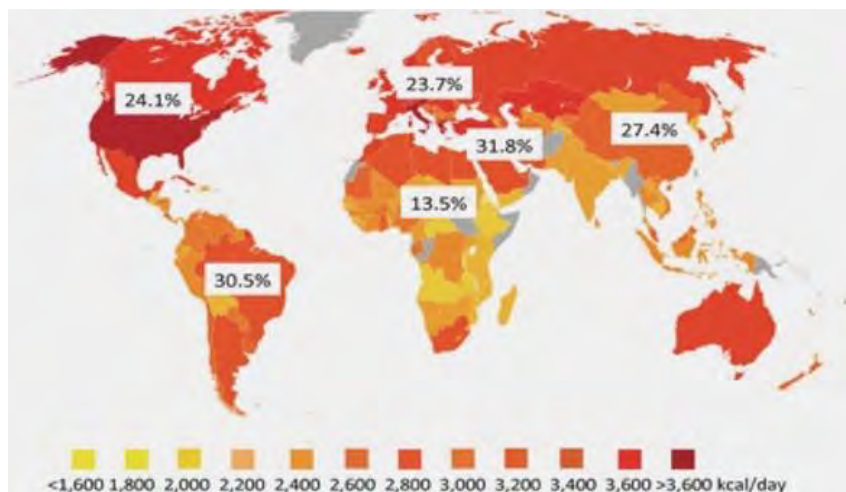


Figura 10. Prevalència de FGNA a tot el món. La prevalència global es del 25%. La prevalència augmenta a mesura que augmenta el consum de kcal/dia entre la població. (adaptada de Younossi et al<sup>108</sup>)

Un aspecte epidemiològicament important i preocupant és l'augment progressiu dels casos de FGNA entre la població infantojuvenil, especialment entre els obesos, amb unes prevalències que oscil·len entre el 36%-44% (109,110). Això ens obligarà a adoptar totes les mesures que siguin necessàries, per evitar que la malaltia pugui evolucionar cap a formes més severes, ja que la fibrosi avançada i fins i tot la cirrosi en aquestes edats estan deixant de ser una raresa (111).

Els pacients amb FGNA solen estar asimptomàtics, i el paper dels metges d'atenció primària és fonamental en el diagnòstic, almenys de sospita, i en l'abordatge inicial (112,113). Tradicionalment considerada una forma de malaltia hepàtica de curs relativament indolent i benigne, en comparació amb el de l'HA o vírica, avui sabem que el FGNA és una malaltia que evoluciona amb més freqüència de la suposada cap a cirrosi i les seves complicacions, inclòs el desenvolupament de HCC (114). Aquest fet, junt amb l'augment de la seva prevalença i incidència, a més a més del seu paper com a factor de risc cardiovascular i de desenvolupament de diversos tipus de càncer, la converteixen en un problema de salut rellevant de primera magnitud (24,115). Malgrat l'esforç per part de les diferents societats científiques d'actualitzar els diversos aspectes epidemiològics, clínics, diagnòstics i de tractament mitjançant guies clíniques, aquestes no són prou conegudes o seguides (109,116).

El FGNA s'associa freqüentment amb comorbiditats metabòliques, com l'obesitat (51%), DM2 (22%), hiperlipidèmia (69%), hipertensió arterial (HTA) (39%) i SM (42%) (108,115,117,118). De manera que, la prevalença augmenta de manera significativa quan s'estudien subpoblacions concretes amb alta prevalença dels tradicionals factors de risc de FGNA. Així, en població adulta amb obesitat, la prevalença se situa en el 50-

70% (119). En població diabètica, estudis de cohorts recents han demostrat que la prevalença de FGNA en DM2 és del 60-80% (120-123). En pacients que tenen més d'un factor de risc (per exemple, obesitat i DM2) la prevalença és gairebé universal (80-100%, segons les sèries) (116,119). Xifres similars s'han obtingut en població candidata a cirurgia bariàtrica (116,119,123).

La magnitud del potencial impacte del FGNA com a problema de salut pot concretar-se a través d'alguns aspectes com ara:

En primer lloc, l'alta prevalença de la malaltia, la seva progressió asimptomàtica i la falta de consciència sobre la mateixa, fan que hi hagi un nombre rellevant de pacients amb malaltia hepàtica en fases avançades que passen inadvertits per al sistema sanitari (el que es coneix com a «cirrosi oculta»). Estudis de base poblacional en diferents continents situen la prevalença estimada de cirrosi oculta en població general al voltant del 1%, en la seva major part atribuïbles a FGNA (124-128). La prevalença de cirrosi oculta en poblacions de risc és encara més gran. Així, estudis de detecció sistemàtica de malaltia hepàtica en dispensaris de diabetis estimen que un 7-18% de pacients diabètics podrien tenir una malaltia hepàtica avançada que no s'hauria detectat prèviament en la majoria de casos (111,122,124,129).

En segon lloc, l'augment en la incidència de FGNA, junt a la millora en el pronòstic de les hepatopaties víriques amb els nous tractaments i a l'actual manca de teràpies eficaces per a l'EHNA, estan canviant de manera significativa el panorama etiològic de la cirrosi. De fet, es preveu que el FGNA es converteixi en la primera indicació de trasplantament hepàtic als Estats Units abans de finals de la present dècada (130). Les dades a Europa suggereixen que hi ha un cert retard respecte als Estats Units, però la tendència va en la mateixa direcció.

En tercer lloc, i en la mateixa línia, l'EHNA s'està convertint en causa principal de HCC en els països occidentals (131). Un estudi recent a Anglaterra va mostrar que un de cada tres pacients amb HCC tenia EHNA, suggerint que el FGNA podria estar convertint-se ja en la primera causa de HCC en aquest país. A més, sembla que l'aparició de HCC en l'EHNA succeeix de manera freqüent en fases pre-cirròtiques, en contrast amb el que passa en hepatopaties per virus o per alcohol (132,133). Un d'aquests estudis suggereix que, com que el cribratge sistemàtic de HCC només es recomana en pacients amb cirrosi, un percentatge significatiu de pacients amb EHNA i HCC no s'haurien sotmès a proves de detecció precoç del tumor i, en conseqüència, estarien sent diagnosticats en

fases més avançades (133). Els estudis disponibles sobre aquest tema són retrospectius i tenen limitacions metodològiques, però si aquestes dades es confirmessin obligarien a redefinir les estratègies de cribratge de l'HCC.

Finalment en quart lloc, el FGNA no només augmenta la morbimortalitat de causa hepàtica sinó també la morbimortalitat de causa cardiovascular, la incidència d'alguns tipus de càncer i, en conseqüència, la mortalitat global d'aquests pacients (116), (119,134). El FGNA s'ha relacionat com a factor de risc independent en malalties cardiovasculars (cardiopatia isquèmica, miocardiopaties, arítmies, ictus) (135). El FGNA s'ha associat també amb una major incidència de càncer de colon (136). Actualment, la primera causa de mort en els pacients amb FGNA és la malaltia cardiovascular, seguida del càncer, per davant fins i tot de la mort per causa hepàtica (116,134).

El diagnòstic de sospita de FGNA es fa a partir de la troballa casual d'alteracions de l'analítica hepàtica o d'alguna prova d'imatge, generalment una ecografia realitzada per un altre motiu.

La biòpsia hepàtica continua sent el millor mètode per fer el diagnòstic de FGNA. A més, permet diferenciar l'esteatosi simple de l'EHNA en identificar les lesions característiques de la mateixa, establir el grau d'activitat i la intensitat de la fibrosi i, per tant, el risc de progressió (137). Per tot això, la biòpsia, malgrat les seves limitacions, encara es considera el mètode diagnòstic d'elecció (138). Actualment s'accepta el diagnòstic de FGNA quan es demostra la presència d'esteatosi mitjançant proves d'imatge com l'ecografia, la tomografia axial computeritzada (TAC) abdominal o la ressonància magnètica (RM). No obstant això, algunes proves, com l'ecografia, només detecten esteatosi quan aquesta és superior al 20%.

En la darrera dècada a l'igual que en las anteriors hepatopaties descrites, han aparegut multitud de mètodes no invasius per fer el diagnòstic i seguiment del FGNA i EHNA, com ara els marcadors serològics o les tècniques d'imatge que mesuren l'elasticitat hepàtica (EH, RM elastogràfica) o quantifiquen el greix (controlled attenuation parameter (CAP). L'objectiu final d'aquests mètodes és reemplaçar progressivament la biòpsia en el diagnòstic i seguiment del FGNA (139) per aquests altres mètodes menys invasius.

La presència de fibrosi en els pacients amb FGNA és el factor més determinant de progressió i mal pronòstic i, malgrat que la biòpsia hepàtica és el millor mètode diagnòstic, actualment tal i com s'ha dit anteriorment, disposem de diversos mètodes no invasius validats, tant serològics com tècniques d'imatge, per detectar la presència de

fibrosi. Existeixen com a mínim 7 marcadors serològics de fibrosi que combinen diferents paràmetres clínics i analítics (115). Alguns, com el BARD o el NAFLD fibrosi score (NFS), han estat creats específicament per al FGNA, i altres, com el quocient AST/ALT, APRI, FIB-4, FibroTest, Fibrometer NAFLD, Hepacore i l'índex (score) enhanced liver fibrosi panel (ELF) van ser descrits per l'hepatopatia per VHC; però han estat posteriorment estudiats i ajustats per la detecció de fibrosi en els pacients amb FGNA. De tots aquests biomarcadors, només el NFS i el FIB-4 han estat suficientment validats amb resultats uniformes. En general, els biomarcadors són bons per descartar la presència de fibrosi significativa o cirrosi amb un valor predictiu negatiu (VPN) >90%, de manera que serien sobretot útils com a test de primera línia per identificar els pacients amb baix risc de fibrosi avançada.

De les tècniques d'imatge, l'EH (FibroScan®, Echosens, Paris) s'està convertint en la millor eina per mesurar la presència de fibrosi en les malalties hepàtiques en general i en el FGNA en particular. Més endavant quan s'expliquin els mitjans de diagnòstic de la fibrosi es descriurà abastament la tècnica. La capacitat diagnòstica de l'EH per detectar fibrosi en pacients amb FGNA ha estat àmpliament avaluada i una recent metaanàlisi demostra que és una tècnica excel·lent per detectar fibrosi avançada, amb una sensibilitat i una especificitat  $\geq 82\%$  per un valor de tall d'entre 8-10,4 kPa, cirrosi amb una sensibilitat i una especificitat  $\geq 92\%$ , valor de tall 10,3-17,5 kPa, essent una mica menor la seva capacitat per detectar fibrosi significativa (fibrosi  $\geq 2$ , escala METAVIR) (140), amb una sensibilitat i una especificitat  $\geq 75\%$ , valor de tall 6,8-7,7 kPa. Hi ha altres tècniques que mesuren l'elasticitat hepàtica, com són la tècnica d'imatge en dues dimensions *Acoustic Radiation Force Impulse* (ARFI), que és similar al fibroscan però que pot ser incorporada a l'aparell d'ecografia permetent escollir la regió a avaluar (141), i la RME, tècnica en tres dimensions. Els estudis que han comparat l'EH i ARFI troben que tots dos tenen la mateixa capacitat diagnòstica per detectar fibrosi significativa i cirrosi, encara que l'ARFI està menys generalitzat. La RME és una tècnica prometedora per mesurar l'elasticitat hepàtica i permet avaluar el volum hepàtic complet (142); les seves principals limitacions són el cost i que en pacients amb sobrecàrrega de ferro no es poden obtenir valors fiables. En l'actualitat, l'EH seria un bon mètode per descartar la presència de fibrosi en els pacients amb FGNA.

Probablement, la combinació de diversos mètodes serològics i elastogràfics en un algorisme diagnòstic permetrà diferenciar els pacients amb elevat risc de progressió a cirrosi d'aquells amb una esteatosi simple. Una proposta relativament senzilla seria classificar els pacients d'acord amb els índexs de fibrosi més validats (NFS i FIB-4) i en

cas d'estar alterats realitzar una elastografia. Això permetria fer només la biòpsia hepàtica en aquells casos amb un nivell intermedi de fibrosi, i d'aquesta manera confirmar el diagnòstic i establir de manera precisa el grau de fibrosi (143).

### **3. Fibrosi hepàtica**

La fibrosi hepàtica pot detectar-se en la majoria de malalties hepàtiques cròniques, i consisteix en el dipòsit de col·lagen i altres proteïnes de la matriu extracel·lular (MEC) en el parènquima hepàtic (144). El dipòsit de proteïnes de la MEC provoca la disrupció de l'arquitectura hepàtica i és un prerrequisit pel desenvolupament de cirrosi, atès que contribueix a l'aparició de nòduls de regeneració i l'augment de la pressió portal. La fibrosi hepàtica és un procés dinàmic resultant de la falta d'equilibri entre els mecanismes "pro" fibrogènics d'inflamació, activació-proliferació de les cèl·lules estrellades, i contracció dels miofibroblasts i els mecanismes de degradació i remodelació de la matriu extracel·lular (145). D'altra banda, la fibrosi hepàtica no presenta una acumulació lineal i per tant requereix un seguiment longitudinal de les malalties cròniques. En un recent estudi, la prevalença de fibrosi hepàtica en la població general va ser del 7,5%, essent les causes més freqüents el FGNA (62%), la malaltia HA (24%), l'hepatitis crònica VHC (6%), l'hepatitis crònica per VHB (4,5%) i la cirrosi biliar primària (1%) (126). Una metanàlisi sobre 111 estudis amb més de 33.000 pacients amb hepatitis crònica VHC i temps d'infecció conegut ha demostrat una progressió no lineal de la malaltia cap a la cirrosi. La prevalença estimada de cirrosi va ser del 16% als 20 anys, però del 41% als 30 anys (146). A més, hi ha factors individuals que poden accelerar la progressió de la malaltia. En pacients amb hepatopatia crònica per VHC, la infecció viral a una edat avançada, el consum d'alcohol i el sexe masculí s'han associat a fibrosi progressiva (147). Això fa que sigui fonamental el seguiment clínic estricte d'aquests malalts.

En les últimes dècades s'han realitzat importants avenços en el coneixement de la història natural i la patogènia de la fibrogènesi hepàtica. S'han definit els factors que regulen la progressió de la fibrosi en els diferents tipus d'HC, així com les bases cel·lulars i moleculars responsables de l'acumulació de col·lagen al fetge fibròtic. Estudis en pacients i en models experimentals realitzats a la dècada dels noranta del segle passat van demostrar que la fibrogènesi hepàtica avançada és un procés reversible, estimulant l'estudi de potencials tractaments antifibrogènics. Actualment, la maniobra terapèutica més eficaç per evitar el progrés de la fibrogènesi hepàtica continua sent l'eliminació de l'agent causal. No obstant això s'han intensificat els esforços en aquest



camp, donant lloc a la identificació en models experimentals de diversos agents amb capacitat antifibrogènica.

### 3.1. Principis bàsics de la fibrogènesi hepàtica

La fibrogènesi hepàtica és un procés complex de reparació tissular del fetge davant un dany hepatocel·lular mantingut, i en el qual intervenen de manera activa diversos tipus cel·lulars i citocines profibrogèniques (figura 11).

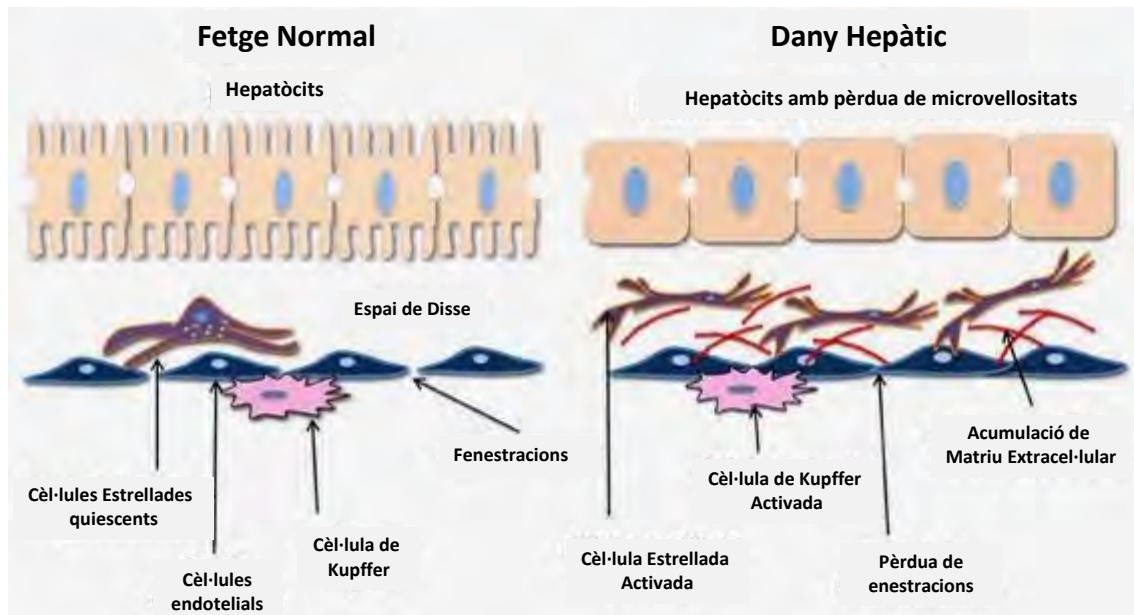


Figura 11. Procés de fibrosi hepàtica (Adaptació de Friedman<sup>145</sup>).

Després d'un dany hepàtic agut, les cèl·lules parenquimàtiques del fetge, els hepatòcits, es regeneren i substitueixen el teixit necròtic restablint l'arquitectura hepàtica normal. En aquest procés es produeix un dipòsit de proteïnes de la MEC, majoritàriament col·lagen no fibril·lar, així com una resposta inflamatòria. Aquest col·lagen no fibril·lar proporciona un suport per als hepatòcits regenerats i contribueix al manteniment de l'arquitectura hepàtica. No obstant això, si el dany hepàtic és mantingut, aquest procés reparatiu es perpetua, el que condueix a una disminució en la capacitat de regeneració hepàtica (148). Paral·lelament, la producció de MEC augmenta i es diposita de forma desorganitzada en el lòbul hepàtic. La població d'hepatòcits és substituïda per una abundant MEC composta majoritàriament per col·lagen fibril·lar, fibronectina i diversos glucosaminoglicans. Aquestes bandes de col·lagen són molt evidents en fases avançades i uneixen diversos espais porta donant lloc als anomenats "ponts de fibrosi". El desenvolupament d'aquests "ponts de fibrosi" precedeix a la formació de nòduls de regeneració i al desenvolupament últim de cirrosi.

La principal cèl·lula implicada en aquest procés és la cèl·lula estrellada hepàtica (HSC, Hepatic stellate cell), un tipus de cèl·lula quiescent similar a un miòcit, que en resposta a l'agressió s'activa i és capaç de transformar-se fenotípicament en miofibroblast (149). La principal proteïna de la MEC és el col·lagen. Amb l'activació de la cèl·lula estrellada es modifica la composició de la MEC, des d'una forma inicial amb col·lagen tipus IV, proteoglicans i laminina, a una altra amb col·làgens formadors de fibra, particularment de tipus I i de tipus III. Aquest procés de la HSC ha esdevingut com el principal tipus cel·lular causant de la síntesi excessiva de col·lagen al fetge fibròtic i ha suposat un dels avenços més significatius en el coneixement de la patogènia de la fibrogènesi hepàtica (150). En condicions normals, la principal funció de les HSC és l'emmagatzematge de vitamina A. En el context de les HC, en canvi, les HSC presenten una transformació fenotípica per la qual adquireixen contractilitat cel·lular i secreten citocines proinflamàtores i MEC, característiques típiques dels miofibroblasts.

Malgrat el paper fonamental de les HSC, els avenços en l'estudi de la fibrogènesi hepàtica han permès dilucidar la transformació en miofibroblasts d'altres tipus cel·lulars. Aquests comprenen, a més de les HSC, fibroblasts portals, fibròcits circulants, cèl·lules derivades de la medul·la òssia, així com processos de transició cel·lular epiteliomesenquimal (151,152). La contribució relativa d'aquests tipus cel·lulars és variable, i probablement reflecteix diferents contribucions segons les diferents etiologies de la fibrogènesi.

Durant el procés de fibrogènesi hepàtica es produeix una complexa interrelació entre els diferents tipus cel·lulars presents al fetge. Així, els hepatòcits danyats alliberen espècies reactives d'oxigen (ROS) i altres mediadors fibrogènics que indueixen el reclutament de cèl·lules inflamàtores. Aquestes, ja siguin limfòcits o cèl·lules polimorfonucleades, al seu torn estan implicades en l'activació de les HSC. Les HSC activades secreten quimiocines i molècules d'adhesió cel·lular, i modulen l'activació de limfòcits, establint d'aquesta manera un cercle viciós (153). Les cèl·lules de Kupffer, els macròfags residents en el fetge, també contribueixen a aquest procés d'alliberament de citocines i ROS. Estudis recents indiquen que la resposta immune al dany hepàtic és un important modulador de la fibrogènesi. Així, les cèl·lules natural killer (NK) disminueixen la fibrogènesi en induir l'apoptosi de les HSC mitjançant l'alliberament d'interferó (IFN)- $\gamma$  (154). El tipus de patró limfocitari que s'infiltra en el parènquima també regula la resposta fibrogènica. Estudis recents semblen indicar que desequilibris en la relació de cèl·lules Th1/Th2 i Treg/Th17 afavoririen la fibrogènesi (155,156).

### **3.2. Mecanismes d'activació de les cèl·lules estrellades hepàtiques**

Les HSC es transformen en resposta a citocines i factors de creixement, activant diferents mecanismes de proliferació, contractilitat, generació i degradació de proteïnes de la MEC, i de producció de senyals proinflamàtòries. Entre aquestes substàncies promotores de l'activació de les HSC s'expliquen diversos factors de creixement (TGF $\beta$ , PDGF), així com substàncies vasoactives (trombina, angiotensina II i endotelina-1), citocines (MCP-1, RANTES) i adipocines (leptina). En canvi, diverses citocines (IFN- $\alpha$ , IGF, adiponectina) i substàncies vasodilatadores (òxid nítric, relaxina) són potents inhibidors de l'activació de les HSC. L'activació i proliferació de les HSC es regula a través de mecanismes moleculars que inclouen diverses vies de senyalització intracel·lular (MAP cinases, PI3-cinasa/AKT, PPAR- $\gamma$ , NF- $\kappa$ B, TLR) i de transport iònic (canals de calci, intercanviador de sodi/potassi), així com a través de l'estrès oxidatiu a causa de la formació de radicals lliures (150,152).

El factor de creixement transformador beta (TGF $\beta$ ) és el mediador més important en la fibrogènesi humana (157). El TGF $\beta$ , en la seva forma biològicament activa, s'uneix a receptors de membrana de les HSC activant diverses cascades intracel·lulars. Especialment, l'activació del sistema de les proteïnes SMAD estimula l'expressió gènica de proteïnes de la MEC, en particular dels gens que codifiquen la síntesi de procolàgen I i III. L'expressió gènica del TGF $\beta$  en el fetge de pacients amb hepatopatia crònica és proporcional al grau de fibrosi i experimentalment la seva inhibició evita l'aparició de fibrosi hepàtica (158).

En el fetge fibròtic, les HSC activades secreten grans quantitats d'inhibidors tissulars de les col·lagenases (TIMP). Aquests enzims regulen l'activitat de les col·lagenases, les quals estan implicades en el procés de degradació de les fibres de col·lagen (159). Durant el procés de fibrogènesi hepàtica hi ha un marcat increment en l'expressió de les TIMP i, per tant, una inhibició de l'activitat de les col·lagenases. Atès que les col·lagenases són els principals enzims encarregats de regular la degradació del col·lagen, la seva inhibició contribueix a l'acumulació de col·lagen en el context de la fibrogènesi. A més, els canvis en la composició de la MEC estimulen al seu torn la transformació de les HSC.

### **3.3. La fibrogènesi en els diferents tipus de malalties hepàtiques**

La patogènia de la fibrogènesi depèn de l'agent etiològic que la provoca (figura 12).

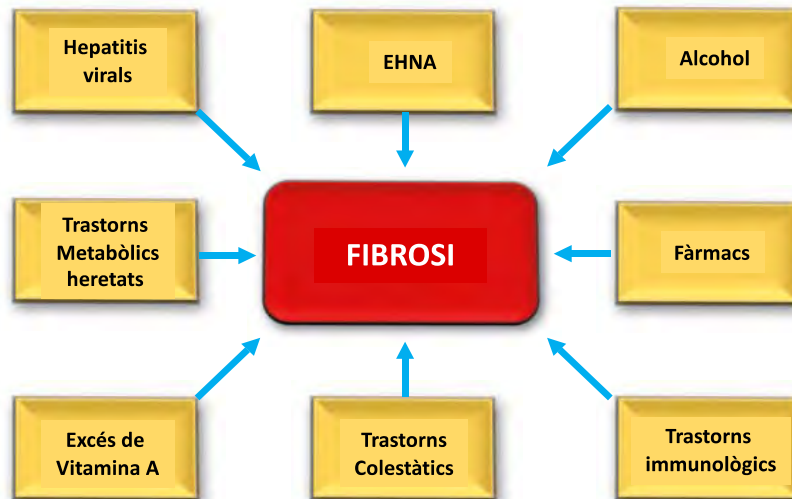


Figura 12. Mostra les diverses etiologies que poden provocar fibrosi hepàtica: la infecció viral per VHB i VHC. Esteatohepatitis no alcohòlica (EHNA). També la fibrosi hepàtica està associada amb el consum d'alcohol, o amb hepatitis autoimmune i colangiopàties cròniques. (Elaboració pròpia).

En la malaltia hepàtica alcohòlica es produeix la infiltració per cèl·lules polimorfonucleades, així com una acumulació de col·lagen al voltant dels sinusoides i les venes centrelobulillars (160). Al seu torn, l'acetaldehid, el principal producte del metabolisme de l'alcohol, indueix estrès oxidatiu en els hepatòcits i estimula la secreció de citocines proinflamàtores per les cèl·lules de Kupffer, activant les HSC i el desenvolupament de fibrogènesi. En l'EHNA, la hiperglucèmia i la RI eleven els valors d'àcids grassos provocant esteatosi hepàtica. L'estrès oxidatiu i la secreció de citocines proinflamàtores promouen l'apoptosi hepatocitària i el reclutament de cèl·lules inflamàtores, desenvolupant fibrosi (161). A les hepatopaties d'origen viral es produeix una acumulació de col·lagen a la zona periportal. La infecció dels hepatòcits per part del VHC o de VHB causa estrès oxidatiu i la infiltració de limfòcits, estimulant l'acumulació de col·lagen (162). Es produeix una major necrosi hepatocitària i una reacció inflamatòria que es caracteritza per la infiltració de limfòcits. A més, diverses proteïnes dels virus hepatotrops activen directament la resposta inflamatòria i el dipòsit de col·lagen per part de les HSC (163). A les colèstasi cròniques, l'acumulació d'àcids biliars en el fetge s'associa a una intensa resposta inflamatòria, estimula la producció de radicals lliures i indueix l'apoptosi dels hepatòcits (164). Així mateix, les cèl·lules biliars secreten mediadors fibrogènics que activen els miofibroblasts portals i l'acumulació de col·lagen.

La progressió de la fibrosi hepàtica està influenciada per factors ambientals i genètics (figura 13).

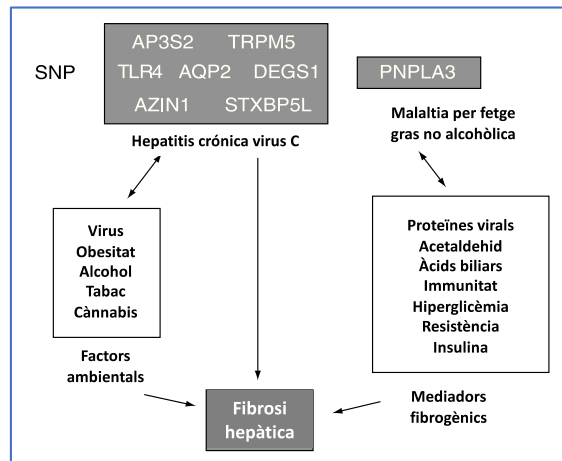


Figura 13. La fibrosi hepàtica és el resultat de la interacció entre múltiples gens, mediadors fibro-gènics i factors ambientals. (Adaptada de Bataller et al<sup>163</sup>).

Així, estudis epidemiològics han identificat variacions genètiques que modulen la susceptibilitat individual a progressar a formes avançades de fibrosi. Els factors genètics més rellevants són una forma de 7 polimorfismes en els pacients amb VHC, i polimorfismes en el gen de la adiponutrina (PNPLA3) en els pacients amb fetge gras. La càrrega genètica interacciona amb factors ambientals com l'obesitat, el consum d'alcohol, el tabaquisme, etc., per modular la resposta al dany hepàtic i la intensitat de la resposta fibrogènica.

Malgrat aquests diferents orígens, totes elles presenten característiques patològiques i mecanismes fisiopatològics comuns (165) (figura 14).

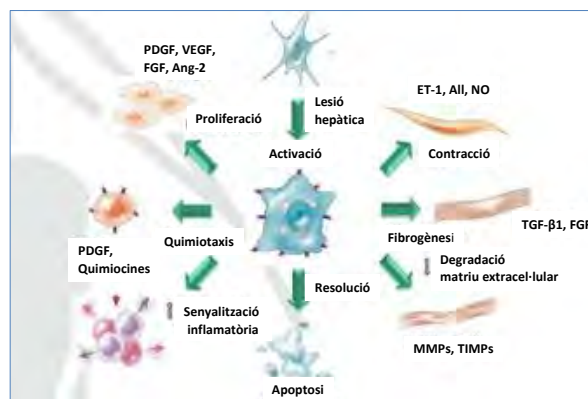


Figura 14. Mecanismes cel·lulars de la fibrosi hepàtica. El dany hepàtic estimula l'activació de les cèl·lules hepàtiques estrellades (HSC). Les HSC activades s'acumulen i produeixen grans quantitats de MEC que es diposita en el parènquima hepàtic alterant la seva arquitectura i reclutant cèl·lules inflamatòries. La fibrosi es pot resoldre a través de la degradació del col·lagen i de la desaparició de HSC activades bé per apoptosi bé al produir-se una reversió de les HSC activades cap a HSC quiescents. (Adaptada i modificada de Friedman<sup>145</sup>).

Si la causa subjacent no és tractada i eliminada, aquest procés pot comportar una acumulació de fibra que distorsiona l'arquitectura hepàtica formant marques fibròtiques

i posteriorment nòduls de regeneració que, si continua persistent, pot acabar evolucionant a cirrosi, insuficiència hepàtica i HCC (19).

La cirrosi hepàtica és doncs l'etapa final del procés fibròtic, que condueix a necroinflamació i fibrogènesi. Histològicament, les lesions fibròtiques al llarg del procés fibrogènic evolucionen des d'un dipòsit feble a la formació de nòduls de regeneració difusos envoltats per densos septes fibrosos els quals comporten la reducció del parènquima hepàtic i, conseqüentment, la pèrdua de funcionalitat. Actualment, la cirrosi hepàtica és la catorzena causa més comú de mort a nivell mundial, provocant més d'un milió de morts anuals (166). En particular, en els països desenvolupats, és un motiu cada vegada més important de morbiditat i mortalitat, situant-se com la quarta causa més comuna de mort en adults a l'Europa Central. A Espanya, d'acord amb els patrons de mortalitat de 2012 (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2015), la malaltia hepàtica crònica i la cirrosi van provocar la mort de més de 4.500 persones a tot el territori (1,1% de les morts registrades en aquest any). Paral·lelament, la cirrosi hepàtica se situa com la principal indicació de trasplantament hepàtic en els països europeus, essent el VHC, l'HA i l'EHNA les causes més comunes (24).

La detecció precoç de la fibrosi hepàtica és, en molts casos, relativament complexa ja que la detecció i símptomes de descompensació hepàtica clínica acostumen a succeir anys després de l'aparició de la lesió (167). De fet amb l'excepció de la insuficiència hepàtica fulminant, el VHC després d'un trasplantament hepàtic i la coinfecció del VIH i el VHC, la malaltia hepàtica evoluciona durant llargs períodes de temps sense ser detectada (144). Es creu que al voltant del 40% dels pacients amb malaltia HC es mantenen asimptomàtics durant 10-15 anys abans que apareguin complicacions (19). Per aquest motiu la prevalença de fibrosi i cirrosi hepàtica és difícil d'avaluar, però s'han d'intentar estratègies de detecció precoç amb les eines diagnòstiques actuals. En aquest sentit, un estudi prospectiu francès realitzat a 7.463 individus majors de 40 anys va estimar la prevalença de fibrosi avançada i cirrosi en un 2,8% i un 0,3%, respectivament (125).

### **3.4. Reversibilitat de la fibrogènesi hepàtica**

Estudis recents indiquen que la fibrogènesi hepàtica és un procés potencialment reversible. L'eliminació de l'agent causal en diversos models experimentals d'HC s'associa a la regressió de la fibrogènesi. En aquest procés es produiria un augment en l'activitat de les col·lagenases, degradant la MEC acumulada i alterant la interacció entre

la MEC i les HSC activades, afavorint la seva apoptosi. La resolució espontània de la fibrogènesi també es dona en pacients després de l'eliminació de l'agent hepatotòxic. Aquest fenomen s'ha descrit en pacients amb hepatitis crònica d'origen viral, malaltia hepàtica alcohòlica, hemocromatosi, cirrosi biliar secundària, malaltia per FGNA i hepatitis autoimmune (168-171). No obstant això poden passar anys abans que aquesta regressió espontània sigui significativa, depenent principalment de la causa subjacent i de la severitat de la malaltia. En el cas de l'hepatitis crònica VHC, l'eliminació del virus comporta una millora en la fibrogènesi, produint-se la seva reversió en una proporció elevada de pacients. Així, en pacients tractats amb AAD, s'ha comprovat una millora en la fibrogènesi (172). Aquests resultats també semblen reproduir-se en el cas de l'hepatitis crònica VHB, en què el tractament antiviral s'associa a una regressió de la fibrogènesi en pràcticament el 50% dels pacients. Estudis recents indiquen que en la malaltia hepàtica no alcohòlica es produeix una disminució de la fibrosi després de la cirurgia bariàtrica (170). Així mateix, també es produeix una reversió de la fibrogènesi en la cirrosi biliar secundària després de la cirurgia descompresora biliar (171). En conjunt, aquestes observacions indiquen que l'eliminació de l'agent causal afavoreix la regressió de la fibrogènesi hepàtica. No obstant això, es desconeixen els mecanismes que possibiliten aquesta regressió i per què el grau en què aquesta es produeix és variable. És possible que la reversibilitat sigui limitada, atès que els nòduls de regeneració i les alteracions en la microcirculació hepàtica que es produeixen en les fases avançades de la fibrogènesi són fenòmens difícilment reversibles. En estudis recents en models experimentals de regressió de la fibrosi s'ha demostrat que durant el procés de reversibilitat de la fibrosi una petita part dels miofibroblasts desapareixen per apoptosi, mentre un elevat percentatge evitaria l'apoptosi adquirint un fenotip similar al de les HSC quiescents. Tanmateix, aquests miofibroblasts que aconsegueixen revertir en HSC mostren una major resposta a estímuls profibrogènics que les HSC quiescents (173,174).

### **3.5. Complicacions de la fibrosi hepàtica**

Com ja s'ha comentat, en molts casos, fins i tot en estadis més avançats, la fibrosi hepàtica tendeix a ser asintomàtica. En aquest punt, els pacients es troben en una fase coneguda com a fibrosi compensada. Habitualment, la simptomatologia clínica no apareix fins que el pacient passa a una fase de cirrosi descompensada, on el pronòstic ja es molt més reservat (144), i l'única teràpia efectiva és el trasplantament hepàtic. Abans d'arribar a aquesta situació, les complicacions més freqüents que succeeixen en la cirrosi hepàtica són la hipertensió portal, la presència d'ascites, la insuficiència renal,

l'hemorràgia per varices esofàgiques, la sèpsia, l'encefalopatia hepàtica i fins i tot el HCC.

### 3.5.1. Hipertensió portal

La hipertensió portal és la causa subjacent de la majoria de complicacions relacionades amb la cirrosi hepàtica i, subseqüentment, de la mortalitat associada. La hipertensió portal es defineix com un augment del gradient de pressió venós hepàtic per sobre dels 5 mmHg. En aquest context, la formació i potencial hemorràgia de varices esofàgiques és una de les principals conseqüències clíniques d'aquest fenomen (175). Al mateix temps, aquesta elevació de la pressió en el sistema venós portal també induïx la formació d'una extensa red de venes, anomenades venes col·laterals portositèmiques, les quals deriven el flux sanguini a la circulació sistèmica per tal d'evitar el fetge (175).

### 3.5.2. Ascites

L'ascites és una acumulació de líquid que es localitza a la cavitat peritoneal del pacient amb cirrosi hepàtica. Està composta entre d'altres per aigua, sal, albúmina, globulines i una concentració baixa de cèl·lules mesotelials i leucòcits, la qual presenta propietats vasodilatadores, proinflamatòries i proangiogèniques (176). Al voltant del 50% dels pacients amb cirrosi compensada desenvolupen ascites en un període d'uns 10 anys des de l'inici d'aquesta. De fet, l'aparició d'ascites és també una conseqüència directa de la hipertensió portal (177) i, a més a més, és un clar indicador de mal pronòstic, amb una taxa de mortalitat del 20% a l'any. A més l'aparició d'ascites també incrementa el risc de desenvolupar una peritonitis bacteriana i fins i tot insuficiència renal, reduint la qualitat i l'esperança de vida del pacient.

### 3.5.3. Hepatocarcinoma

Al llarg del procés cirròtic es produeix una reducció en la proliferació d'hepatòcits, així com un increment del teixit fibrós. Aquesta situació, que indica un esgotament de la capacitat de regeneració del fetge, pot conduir finalment al desenvolupament de nòduls cancerosos (144). De fet, la gran majoria de pacients amb HCC tenen un fetge cirròtic. Anualment, al voltant de 500.000 persones d'arreu del món són diagnosticades de HCC. Estudis recents apunten que la taxa de mortalitat de cirrosi hepàtica associada a HCC està augmentant en alguns països desenvolupats (178). L'HCC és actualment la principal causa de mort relacionada amb el fetge en pacients amb cirrosi compensada, essent fins abans de la introducció dels AAD la infecció per VHC, el factor que s'associa



a una major incidència de HCC en aquests pacients (178,179). Els resultats d'un estudi retrospectiu que va analitzar 389 pacients amb HCC, mostren que la taxa de mortalitat a 1 any es situa al 49%, reduint-se al 19% al cap de 3 anys (180). Si bé la resecció quirúrgica del tumor hepàtic acostuma a ser el tractament escollit en els pacients no cirròtics, no sempre es pot realitzar aquest procediment en pacients amb cirrosi. És per això que el trasplantament hepàtic acostuma a ser la millor opció, presentant el menor risc de recurrència tumoral (179,181).

### **3.6. Prevenció de la fibrosi hepàtica**

La prevenció de la fibrosi i cirrosi hepàtica està fortament associada amb els canvis d'estil de vida. En particular, la RI, l'obesitat i la SM són tres dels factors més importants a evitar per tal de reduir les possibilitats d'aparició o d'empitjorament de la fibrosi hepàtica. El consum d'alcohol és un altre factor ben conegut que incrementa la probabilitat de desenvolupar fibrosi i cirrosi hepàtica. Fins i tot en aquells pacients fibròtics, independentment de l'etiologia causant de la malaltia, la ingesta d'alcohol pot comportar un increment del gradient de pressió venosa hepàtica (GPVH), així com una major possibilitat d'hemorràgia de varices esofàgiques i fins i tot l'aparició de HCC (182). El fet de fumar tabac o cànnabis també s'ha vist que són factors que acceleren l'evolució de la fibrosi hepàtica en pacients amb diverses etiologies (183). Finalment però, les begudes i aliments rics en antioxidants sembla que poden tenir un potencial rol protector i preventiu en el procés fibròtic. La vacunació contra el virus de l'hepatitis B també és una acció rellevant per prevenir complicacions hepàtiques futures (184).

### **3.7. Dianes terapèutiques en la fibrosi hepàtica**

Actualment no hi ha un tractament farmacològic antifibrogènic aprovat per la fibrosi hepàtica. L'eficàcia de la majoria de compostos antifibrogènics estudiats en models experimentals no s'ha investigat en estudis controlats en pacients. L'escassetat d'estudis es deu, en part, a la necessitat de realitzar un seguiment a llarg termini, d'almenys 2-3 anys, a causa de la lenta progressió de la fibrosi hepàtica. D'altra banda, encara es requereix la realització de biòpsies hepàtiques seriades per avaluar els canvis en la progressió de la fibrosi, i això suposa una dificultat afegida. Encara que existeixen biomarcadors que estimen el grau de fibrosi hepàtica, no s'han validat de manera convincent en estudis longitudinals. Aquesta validació és important, doncs facilitarà i estimularà la realització d'estudis clínics a gran escala. La teràpia antifibrogènica ideal hauria de ser efectiva en l'eliminació de l'acumulació de col·lagen sense afectar la síntesi

normal de MEC, demostrar un bon perfil de seguretat en tractaments perllongats i un escàs potencial hepatotòxic.

Degut a que la inflamació hepàtica precedeix al desenvolupament de fibrosi, la utilització de fàrmacs amb acció antiinflamatòria és una de les estratègies proposades com a tractament de la fibrosi hepàtica. Els corticosteroides tenen acció antifibrogènica en el tractament de l'hepatitis autoimmune i de l'hepatitis alcohòlica aguda, però no s'ha demostrat la seva utilitat en la resta de hepatopaties (185). També s'han investigat altres teràpies antiinflamatòries, com l'administració de colquicina, l'ús continuat de la qual s'associa a nombrosos efectes secundaris, o la interleucina (IL)-10 que, tot i disminuir la fibrogènesi en pacients amb hepatitis crònica VHC, també va augmentar la càrrega viral.

Una altra estratègia terapèutica en estudi investiga el potencial antifibrogènic de fàrmacs que actuarien sobre l'activació i/o proliferació de les HSC. Aquests inclouen substàncies antioxidants, així com moduladors de vies intracel·lulars implicades en la resposta biològica de les HSC. Entre els antioxidants estudiats es troben la vitamina E, silimarina, fosfatidilcolina i S-adenosilmetionina (186,187). Atès que l'estrès oxidatiu juga un paper clau en la patogènia de l'HA es va investigar l'ús d'antioxidants en aquesta patologia, però no va ser possible demostrar de manera consistent la seva eficàcia antifibrogènica.

L'estratègia més prometedora en el tractament de la fibrosi hepàtica és la inhibició del sistema renina-angiotensina (SRA), especialment els antagonistes dels receptors tipus 1 de l'angiotensina II (AT1) (188). Aquests fàrmacs són de gran utilitat en el tractament de la fibrosi cardíaca i renal, i la seva administració per períodes perllongats sembla ser segura. En pacients trasplantats als quals es van administrar inhibidors del SRA com a tractament de l'HTA varen mostrar una progressió més lenta de la fibrosi hepàtica. Així mateix, un estudi on es va administrar losartan durant 18 mesos a pacients que tenien contraindicacions pel tractament antiviral, va mostrar que aquest medicament és ben tolerat en els pacients amb hepatitis crònica VHC i disminueix l'expressió de gens pirogènics (189). Resultats preliminars suggereixen que aquesta estratègia és útil per modular la fibrosi en pacients amb esteatohepatitis alcohòlica i EHNA. En l'actualitat hi ha diversos estudis que avaluen l'eficàcia antifibrogènica del candesartan, el fàrmac amb millor perfil hepàtic, en pacients amb HC (190).

Pel que fa a les infeccions víriques cròniques, el tractament s'ha basat en una combinació d'un estimulador limfocitari com l'interferó gamma pegilat i un agent antiviral com la ribavirina. Malgrat això, aquesta combinació presenta una baixa eficàcia i

nombrosos efectes secundaris, els quals contribueixen al rebuig o aturada del tractament a causa del deteriorament excessiu del benestar dels pacients (191). Afortunadament, s'han produït grans avenços en aquest camp i recentment s'han aprovat nous AAD lliures d'interferó on els efectes secundaris són mínims i les taxes de curació ronden el 100% en pacients amb cirrosi compensada i al voltant del 90% en pacients amb cirrosi descompensada (191,192). Malgrat tot, un estudi recent sembla apuntar que en pacients amb VHC que prèviament havien estat tractats i curats per HCC, s'incrementaria la recurrència tumoral coincidint amb l'eradicació del virus (193).

En els pacients amb malaltia HA, la teràpia més efectiva és l'abstinència. Tot i que s'ha investigat el potencial terapèutic de fàrmacs antioxidants, no va ser possible demostrar la seva eficàcia antifibrogènica (191,192).

Els pacients amb FGNA presenten en general una major ingesta calòrica i una vida més sedentària que els pacients sense FGNA. La primera i més eficaç mesura terapèutica és aconseguir una pèrdua de pes significativa i mantinguda mitjançant la dieta i l'exercici físic (194). La pèrdua de pes aconsegueix disminuir tant la resistència hepàtica i perifèrica a la insulina com l'estrès oxidatiu, millorant el perfil lipídic. Hi ha una relació directa entre el percentatge de pèrdua de pes i la millora o resolució de les lesions histològiques. El contingut de greix millora amb una pèrdua de pes del 3-5% i la necroinflamació amb una pèrdua de pes del 7%, mentre que per obtenir un efecte beneficiós sobre la fibrosi cal una pèrdua de pes igual o superior al 10% (195).

Es considera que l'esteatosi simple és un procés benigne que no requereix tractament, mentre que el tractament s'ha d'indicar en els pacients amb fibrosi avançada, o bé en aquells amb una EHNA florida, ja que la inflamació és el precursor de la fibrosi, i també en els pacients amb factors de risc de progressió: homes, pacients amb una edat superior als 50 anys i els que pateixen DM2 (116). En l'actualitat no existeix cap tractament farmacològic aprovat per al FGNA. El fàrmac ideal per al tractament de l'EHNA hauria de ser capaç de corregir la RI, disminuir el contingut de greix en el fetge, la inflamació i el dany hepàtic i tenir, a més, una acció antifibròtica. Entre aquests tractaments que s'estan avaluant destaquen els adreçats a millorar la RI com ara els agonistes PPAR especialment els  $\gamma$  (pioglitazona, elafibranor, liraglutida), els antioxidants (vitamina E), els agonistes FXR (àcid obeticòlic), els fàrmacs per prevenir la necrosi i l'apoptosi i els antifibròtics (pentoxifilina, cenicriviroc, emricasan) (196,197). Hi ha la impressió que probablement pel tractament de l'EHNA serà necessària una combinació de diversos fàrmacs dirigits a diferents dianes.

L'ús de la derivació portosistèmica intrahepàtica transjugular és una tècnica emprada per tal de reduir els efectes deleteris associats a la hipertensió portal i a la síndrome hepatorenal. Malgrat això, presenta certs riscos associats al procediment que cal tenir en consideració (198). En pacients cirròtics i amb ascites, la paracentesi i la profilaxis antibiòtica són també altres estratègies per tal de drenar el líquid de la cavitat abdominal i per prevenir la peritonitis bacteriana espontània, respectivament. També es recomana reduir la ingesta de sodi a la dieta així com el tractament amb diürètics en determinats estadis de la malaltia (199). Si bé actualment la formació d'ascites és menys habitual gràcies a les millores de detecció precoç del procés fibròtic, l'única opció factible de millora pels pacients amb una cirrosi avançada és el trasplantament hepàtic. De fet, la cirrosi hepàtica és la indicació més comuna de trasplantament de fetge a Europa, amb més de 5.500 trasplantaments anuals (24). Actualment, la taxa de supervivència a 1 any i a 5 anys després de la cirurgia es troba al voltant del 85% i del 75%, respectivament (200).

#### **4. Avaluació clínica de la fibrosi hepàtica**

##### **4.1. Aspectes generals**

El diagnòstic precoç de la fibrosi hepàtica permet identificar els factors causals responsables de la inflamació hepàtica i la posterior aplicació d'intervencions específiques com per exemple, teràpia antiviral per a la infecció per VHB o VHC, intervencions psicosocials per la malaltia HA i canvis d'estil de vida i tractament de la DM2 i l'obesitat per al FGNA (201). L'eliminació del factor causal atura la inflamació hepàtica i afavoreix la regressió de la fibrosi (202). El diagnòstic precoç s'hauria de realitzar a tots els nivells assistencials, tant en l'atenció primària com en la medicina especialitzada. Habitualment s'utilitzen les proves de funció hepàtica, especialment el valor de les transaminases, que tenen escassa sensibilitat i no són útils per al diagnòstic precoç de les malalties hepàtiques cròniques (43). Per exemple, un estudi va mostrar que el 59% dels pacients amb diagnòstic histològic de FGNA tenien una concentració sèrica normal d'ALT (203).

Al llarg de les últimes dècades s'han invertit molts recursos en el descobriment i desenvolupament de noves estratègies que millorin la capacitat diagnòstica actual de la malaltia hepàtica. Aquests esforços venen justificats, tal i com s'ha dit anteriorment, per l'elevat interès en diagnosticar precoçment als pacients amb fibrosi hepàtica i poder iniciar el més aviat possible les intervencions terapèutiques necessàries per evitar així

possibles complicacions. Bàsicament, les diferents estratègies emprades per aquesta finalitat es poden classificar en invasives i no invasives. Pel que fa al primer grup, els procediments més habituals inclouen la biòpsia hepàtica i el GPVH. En el segon grup en canvi, s'hi inclourien les proves d'imatge i la determinació de diferents paràmetres (marcadors serològics) de dany hepàtic o de recanvi de la MEC que es troben presents a la sang.


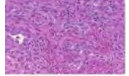
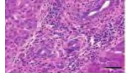
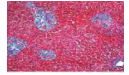
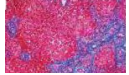
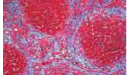
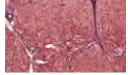
## **4.2. Mètodes invasius**

### **4.2.1. Biòpsia hepàtica**

L'ús de la biòpsia hepàtica es va generalitzar a partir del 1958 amb l'estandardització del mètode de Menghini (204) i actualment és el mètode de referència per determinar el grau de lesió tissular (inflamació, fibrosi, esteatosi). L'estadi de la fibrosi hepàtica mostra la severitat de la lesió des de l'absència de fibrosi (estadi F0) fins el desenvolupament de cirrosi (F4 segons l'escala Metavir o F5-F6 segons l'escala Ishak). El grau necroinflamatori mostra l'activitat de la lesió i el risc de progressió amb major o menor velocitat (205). Les diferents classificacions d'estadi i grau han estat extensament avaluades en pacients amb hepatopatia crònica VHC (206). Entre aquestes cal destacar el sistema METAVIR (207), el Ishak (208) i el Scheuer (209). Moltes d'aquestes aproximacions fan ús del concepte de graduació i d'estadificació. La graduació descriu la intensitat de l'activitat necroinflamatòria mentre que l'estadificació es focalitza en l'alteració arquitectònica de l'òrgan així com en la determinació de la quantitat de fibrosi. En el cas concret del sistema Ishak per exemple, la graduació s'avalua a través de la modificació d'un mètode semiquantitatiu descrit per Knodell et al (210), el qual permet determinar l'índex d'activitat histològica. El sistema de puntuació va de 0 a 18, essent 0 no inflamació i 18 el grau més elevat de necroinflamació. L'estadificació, en canvi, es basa en una puntuació sobre 6 en la qual s'avalua l'extensió de la fibra. Igual que abans, el valor més baix indica absència de fibra mentre que un valor de 6 suggereix un estadi cirròtic. Pel que fa a la classificació de Scheuer, tant la puntuació de la graduació com de la l'estadificació comprenen cinc estadis progressius. Així, un estadi F0 indica absència de fibrosi, quan apareix una lleugera fibrosi portal es considera F1, mentre que si aquesta es troba per la zona periportal es classifica com a F2 i, finalment quan la fibrosi es localitza més enllà del tracte portal formant septes fibrosos es considera F3 i quan apareixen nòduls de regeneració ja es classifica com a F4 o cirrosi (209). Finalment, la classificació de METAVIR (207) presenta una puntuació molt similar

respecte a la classificació anterior pel que fa a l'estadificació (valors de 0 a 4) i en canvi, un menor rang pel que fa a l'activitat inflamatòria (valors de 0 a 3) (taula 1).

Taula 1. Estadificació dels sistemes de classificació en la fibrosi hepàtica

Histologia	Descripció	ISHAK	METAVIR/ SCHEUER
	Absència de fibrosi	0	F0
	Localització d'una lleugera fibrosi portal	1	F1
	Extensió de la fibrosi a la majoria de les àrees portals	2	F2
	Fibrosi en la majoria de les àrees portals i, ocasionalment, formant septes fibrosos	3	
	Fibrosi més enllà del tracte portal i formant ponts fibrosos (porto-portals)	4	F3
	Formació de ponts fibrosos porto-portals i porto-centrals i, ocasionalment, nòduls	5	
	Cirrosi, probable o confirmada, amb un elevat nombre de nòduls de regeneració	6	F4

Adaptada de Metavir, Ishak i Scheuer <sup>207-209</sup>.

Tant la classificació METAVIR com la de Scheuer, a l'usar només 4 nivells diferents per estadificar la fibrosi, permeten una millor reproductibilitat i major concordança entre els patòlegs en comparació a la classificació Ishak (145). Malgrat totes les diferències existents entre les diferents classificacions, el propòsit final de totes elles és registrar aquelles característiques histològiques que semblen indicar major severitat i progressió del procés fibrogènic, així com poder realitzar un diagnòstic i confirmar l'etiologia en casos d'incertesa. La fibrosi hepàtica ha estat clàssicament la variable amb major valor pronòstic sigui quina sigui l'etiologia de la malaltia hepàtica. La incidència acumulada de mort o trasplantament als 6 anys es del 4% en pacients amb escassa fibrosi (F1 segons Metavir o F2 segons Ishak) i del 28% en pacients amb cirrosi (211). Després del trasplantament hepàtic, l'activitat necroinflamatòria als 3 mesos i la presència de fibrosi significativa (F2-F4) a l'any del trasplantament identifiquen pacients amb risc de desenvolupar malaltia severa (212). Malgrat tot, la utilitat de la biòpsia en el seguiment de les malalties cròniques del fetge és discutible ja que es tracta d'un mètode invasiu no exempt de riscos i la seva interpretació pot variar segons la qualitat de la mostra, la complexitat del "score" i l'experiència de l'observador (213). Per altra banda, la

classificació de la fibrosi en estadis (F0: absència de fibrosi, F1: fibrosi portal, F2: fibrosi periportal, F3: ponts de fibrosi i F4: cirrosi segons l'escala Metavir) quantifica de forma incompleta els canvis durant el seguiment, i el seu valor pronòstic queda limitat a la presència de cirrosi, sense informar sobre l'existència d'hipertensió portal significativa, el desenvolupament de varices esofàgiques o el risc de descompensació clínica.

Malgrat la biòpsia hepàtica percutània, ha estat considerada tradicionalment l'estàndard de referència en la avaluació de l'extensió de la fibrosi hepàtica, presenta una sèrie d'inconvenients. A més, al desavantatge evident de la seva invasivitat, s'hi afegeixen altres limitacions, com són, la seva exactitud diagnòstica (amb subestimació o sobreestimació de l'estadi de fibrosi) produïdes pel substancial error de mostreig i la variabilitat que determina l'observador en la seva interpretació (individual o entre observadors). L'error en l'obtenció de la mostra s'ha demostrat en biòpsies guiades per laparoscòpia, en les que les mostres obtingudes concomitantment del lòbul hepàtic dret i de l'esquerra tenien una diferència d'almenys un estadi en el 33% dels casos, amb infradiagnòstic de cirrosi en un 14,5% dels casos (214). Aquests errors són inevitables per la irregularitat en la distribució de les lesions i perquè la biòpsia representa 1/50.000 parts del fetge, encara que podrien reduir-se amb l'obtenció d'una mostra de mida més adequada. Les guies de la Associació Americana per l'estudi de les Malalties Hepàtiques (AASLD) han recomanat una longitud d'espècimen de biòpsia d'almenys 2-3 cm, obtingut amb una agulla de calibre 16 i que obtingui més d'11 tractes portals complets, per una adequada estadificació i gradació (205). La importància de l'allargada òptima de la biòpsia varia amb la malaltia avançada i també amb l'estadi. Una longitud de biòpsia d'1,5 cm pot ser adequada en moltes hepatopaties (215), encara que no és adequada per identificar la presència de cirrosi fins en un 20% dels casos (214). Segons els diferents estudis, l'exactitud de l'estadificació i gradació de la biòpsia es redueix quan la longitud és menor de 2 o 2,5 cm, el que determina una infraestimació de l'estadi en mostres més curtes (31).

En relació a la variabilitat entre observadors, s'ha conclòs que existeix una adequada reproductibilitat en la classificació de la fibrosi, independentment del sistema utilitzat pels patòlegs (207), i que la variabilitat es veu influenciada principalment per l'experiència del patòleg (216). Encara que no hi ha consens en l'estandardització dels sistema d'estadificació de la fibrosi, s'ha demostrat que existeix un excel·lent grau d'acord entre els mateixos, tal i com s'ha confirmat per les classificacions de Metavir i Ishak (217). Les complicacions de la biòpsia percutània inclouen: dolor (10-30%), hemorràgia, peritonitis biliar i pneumotòrax. Entre un 1% i un 5% de pacients biopsiats requereixen

hospitalització o prolongació de la seva estada degut a complicacions severes, que en la seva majoria es deuen a la presència de contraindicacions o al nombre de biòpsies realitzades. La taxa de mortalitat canvia, segons les sèries, entre un 1:1.000 i 1:10.000 de les biòpsies realitzades (218-220). La via percutània esta contraindicada si hi ha trastorns de la coagulació, ascites massiva i trombocitopènia. En aquests casos, es pot indicar la biòpsia per via transjugular, que accedeix al parènquima hepàtic a través de la vena hepàtica.

#### **4.2.2 Gradient de pressió venós hepàtic**

Si bé la biòpsia hepàtica es realitza normalment, tal i com s'ha descrit, per via percutània, també es pot obtenir de forma transjugular. Aquest últim procediment, a més a més d'adquirir mostres d'una qualitat similar a les obtingudes de forma percutània, permet obtenir informació pronòstica addicional a través de la mesura indirecta de la pressió portal així com mesurar el GPVH, o quocient entre la pressió venosa hepàtica lliure i l'enclavada. Això últim afegeix el valor pronòstic d'identificar la presència d'hipertensió portal, quan el GPVH es superior a 5 mmHg, i d'hipertensió portal significativa quan es superior a 10 mmHg, amb risc de desenvolupar complicacions com ara varices esofàgiques (221) i de HCC (222). Recentment, el GPVH ha demostrat ser més precís que la biòpsia hepàtica a l'hora d'identificar pacients amb recurrència severa del VHC després d'un trasplantament hepàtic (223).

Tanmateix, ambdós procediments són invasius i per tant, existeixen forces contraindicacions. Tots aquests factors han comportat que recentment, hagi crescut l'interès en el desenvolupament de mètodes alternatius no invasius per analitzar el grau de fibrosi hepàtica i realitzar el seu seguiment de forma més segura. De fet, el desenvolupament d'aquestes noves estratègies no invasives per estadificar i/o validar l'evolució de la malaltia han posat de manifest que, globalment, la biòpsia hepàtica es probablement un mètode de referència imperfecte (224)).

### **4.3. Mètodes no invasius**

#### **4.3.1. Metodologia utilitzada per avaluar el rendiment diagnòstic**

Les mesures bàsiques per avaluar l'exactitud diagnòstica d'un test són la sensibilitat (proporció de resultats positius en subjectes amb la malaltia) i l'especificitat (proporció de resultats negatius en subjectes sense la malaltia). L'exactitud diagnòstica global del mètode per el conjunt de tots els possibles punts de tall s'avalua amb el càlcul de l'àrea



sota la corba ROC (Receiver Operating Characteristic) o AUROC (àrea under de ROC), prenent com a referència estàndard la biòpsia hepàtica. La corba ROC es el gràfic de la taxa de falsos positius del test (o 1-especificitat, en l'eix X), versus la seva sensibilitat (en l'eix Y). Cada punt d'aquesta corba que va d'un valor 0,5 (atzar) a 1 (discriminació perfecta o exactitud) representa la sensibilitat i taxa de falsos positius a diferents llindars de decisió. Malgrat tot, l'ús de la biòpsia com estàndard de referència no es l'ideal ja que, per exemple, si s'assumeix una sensibilitat i especificitat d'un 90% per la biòpsia i una prevalença de malaltia d'un 40%, un marcador perfecte tindria una AUROC de 0,90 en lloc de 0,99 (225).

Les AUROC obtingudes es relacionen amb la prevalença de cada estadi de fibrosi, això s'ha descrit com a biaix d'espectre. Aquest efecte adquireix importància quan es comparen els mètodes diagnòstics entre diferents poblacions. Si els extrems en l'estadificació de la fibrosi F0 i F4 estan sobrerrepresentats en una població, la sensibilitat i l'especificitat del test serà major que en una població que té estadis intermedis de fibrosi, F1 i F2. Diverses formes de prevenir aquest biaix inclouen l'ajust d'AUROC utilitzant el mètode DANA (diferència entre fibrosi avançada [F2-F3-F4] i no avançada [F0-F1]) (226). Segons el mètode, es transforma un determinat patró de prevalença d'estadis de fibrosi en una distribució uniforme, amb un valor de prevalença de 0,20 per a cada un dels 5 estadis de METAVIR (o prevalença estàndard o uniforme). En aquest cas, la mitjana de fibrosi en unitats METAVIR és 3 per a fibrosi avançada [mitjana de  $(F2+F3+F4)/3=(2+3+4)/3=3$ ] versus 0,5 per a fibrosi no avançada [mitjana de  $(F1+F0)/2=(1+0)/2=0,5$ ]. La diferència DANA en aquesta prevalença uniforme és de 2,5. La distribució natural observada es calcula amb la mateixa fórmula, amb els valors reals. Es realitza el gràfic d'AUROC del marcador pel diagnòstic de fibrosi avançada versus diferents combinacions d'estadis de fibrosi, el que resulta un espectre ampli de DANA. El rang de DANA va d'1 a 4. Un DANA d'1 s'obtindria si la fibrosi avançada correspon solament a F2 i la no avançada solament a F1 i un DANA de 4, si la fibrosi avançada solament inclou F4, i la no avançada F0. La regressió realitzada entre les AUROC i l'espectre de DANA permet estimar les AUROC a partir de DANA. La fórmula per estandarditzar les AUROC estimades per diferents prevalències d'estadis es:  $AUROC = \text{coeficient constant} + (\text{coeficient de regressió DANA}) (DANA)$ . La fórmula per calcular les AUROC ajustades segons la prevalença de fibrosi observada es  $ObAUROC + (\text{coeficient de regressió DANA}) (DANA \text{ natural} - DANA \text{ observat})$ . La fórmula per calcular AUROC ajustats segons DANA uniforme de 2,5 es  $ObAUROC + (\text{coeficient de regressió DANA}) (2,5 - DANA \text{ Observada})$  (227).

En diferents contextos clínics, l'avaluació del comportament del mètode requereix tests mes intuïtius com el valor predictiu positiu (VPP) (probabilitat que un pacient tingui la malaltia quan el resultat es positiu) i VPN (probabilitat que no tingui la malaltia si el resultat es negatiu), respectivament. Les raons de versemblança o likelihood ratios (LR) relacionen sensibilitat i especificitat en una sola mesura. La LR positiva és el quocient entre sensibilitat i 1-especificitat (subjectes malalts amb resultat positiu en la prova i subjectes sans amb resultat positiu) i és la més emprada a la pràctica. La LR negativa es el quocient entre 1-sensibilitat i especificitat (subjectes amb malaltia amb resultat negatiu i subjectes sans amb resultat negatiu). Una LR+ superior a 10 i una LR – per sota de 0,1 donen evidència diagnòstica convincent. El quocient entre ambdós, LR+ i LR-, s'anomena Diagnostic Odds Ratio (DOR) i es defineix com la probabilitat d'un resultat positiu en subjectes amb la malaltia sobre la probabilitat d'un test positiu si no té la malaltia.

#### **4.3.2. Mètodes no invasius**

Un test no invasiu ideal ha de ser simple, de baix cost, disponible, reproduïble, específic del fetge, exacte en la predicció de tot l'espectre de la malaltia, i amb un rang dinàmic útil en el seguiment de la progressió de la fibrosi en el temps. Els tests no invasius actuals aporten molts d'aquests avantatges, encara que no estan enfocats en l'estadificació exacta de la fibrosi, sinó en categoritzar-la en lleu (estadis METAVIR F0 i F1) versus significativa (F2 o major) i cirrosi. Aquests inclouen els mètodes d'imatge i elastogràfics, així com els diferents marcadors serològics (228).


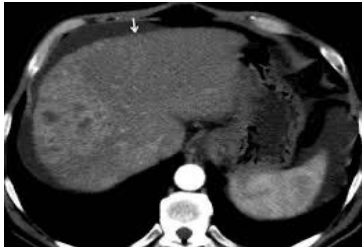
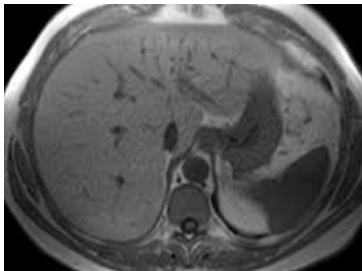
##### **4.3.2.1. Mètodes radiològics**

L'ecografia abdominal, la TC i la RM, són molt útils en la pràctica clínica diària per a l'avaluació dels pacients amb hepatopatia crònica (taula 2).

De totes elles, la més utilitzada constituint-se en la prova de primera línia és l'ecografia abdominal degut al seu baix cost, no és invasiva, és ràpida i ben acceptada pels pacients. La visualització d'una superfície nodular és el signe radiològic més fiable per detectar cirrosi, amb un AUROC de fins a un 0,88, amb una sensibilitat del 89% i una especificitat del 82% (230). Altres signes habituals són un patró ecogràfic irregular i la hipertròfia del lòbul caudat, signes molt específics (especificitat del 100%) però amb sensibilitats variables ja que la seva visualització depèn de l'observador. La dilatació de la vena porta >13 mm, la inversió del fluxe portal o la presència de col·laterals

portosistèmiques permeten el diagnòstic d'hipertensió portal amb una especificitat propera al 100%, però amb una sensibilitat variable. De la mateixa manera, la presència de esplenomegàlia és el signe radiològic més sensible, però la seva especificitat és baixa (36%) (231). Això ens indica que les proves radiològiques clàssiques es limiten al diagnòstic de malaltia hepàtica avançada o cirrosi.

**Taula 2:** Proves d'imatge en el diagnòstic de fibrosi hepàtica

Tècnica	Avantatges	Limitacions
<b>Ecografia abdominal</b> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ampliament disponible i validada</li> <li>• Fàcil de fer: tècnica de primera línia.</li> <li>• Baix cost</li> <li>• Molt útil per excloure cirrosi, així com, trombosi portal i venes hepàtiques.</li> <li>• Els signes de cirrosi i hipertensió portal són específics però no sensibles.</li> <li>• El millor signe són els nòduls de superfície.</li> <li>• La presència de col·laterals són 100% específiques d'hipertensió portal.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Variabilitat interobservador</li> <li>• La seva precisió per a la detecció de la majoria dels signes d'hipertensió portal no és suficient.</li> <li>• No permet detectar o descartar amb precisió la presència de varius.</li> </ul>
<b>Tomografia axial computoritzada (TAC)</b> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ampliament disponible</li> <li>• Permet una visualització transversal del fetge, melsa i sistema portal.</li> <li>• Els signes de cirrosi i hipertensió portal són específics però no sensibles.</li> <li>• La presència de col·laterals són 100% específiques d'hipertensió portal.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Risc d'irradiació</li> <li>• Risc de nefropatia induïda per contrast iodat</li> <li>• Cost elevat</li> </ul>
<b>Ressonància magnètica</b> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ampliament disponible</li> <li>• Permet una visualització transversal del fetge, melsa i sistema portal.</li> <li>• Els signes d'hipertensió portal són específics però no sensibles; s'estan analitzant noves seqüències dinàmiques que milloren la seva sensibilitat</li> <li>• La presència de col·laterals són 100% específiques d'hipertensió portal.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Risc de nefropatia induïda per gadolinio</li> <li>• Cost molt elevat</li> </ul>


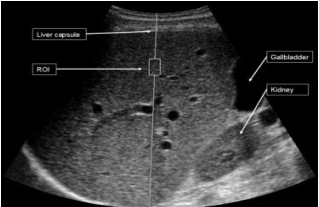
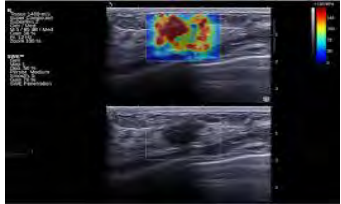
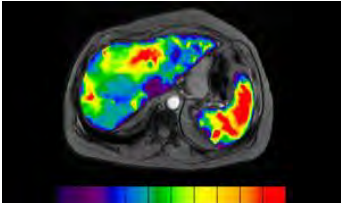
Adaptat i ampliat de Caballeria et al<sup>229</sup>

#### 4.3.2.2. Mètodes elastogràfics

En les HC, el fetge perd elasticitat i augmenta la seva rigidesa per la presència de fibrosi. En les últimes dècades s'han desenvolupat noves tècniques per a la detecció de fibrosi hepàtica basades en el fet que la presència de fibrosi determina la pèrdua d'elasticitat dels teixits amb augment de la seva rigidesa.

Entre els mètodes físics disponibles, per avaluar la rigidesa del fetge, el més utilitzat és l'EH (28,232). Altres tècniques d'imatge inclouen ARFI, l'elastografia per ona de tall 2 D i la RME (28) (taula 3).

**Taula 3:** Proves elastogràfiques en el diagnòstic de fibrosi hepàtica

Tècnica	Avantatges	Limitacions
<b>Elastografia hepàtica (Fibroscan®)</b> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tècnica validada</li> <li>Ràpida i fàcil de realitzar</li> <li>Rang de valors entre 2-75 kPa</li> <li>Criteris de qualitat ben definits</li> <li>Bona reproductibilitat</li> <li>Bon rendiment per al diagnòstic de fibrosi severa i cirrosi (AUROC &gt; 0,9)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rendiment inferior per al diagnòstic de fibrosi moderada.</li> <li>Limitada en pacients amb obesitat o ascites</li> <li>Fals positiu en cas d'hepatitis aguda, colèstasi extrahepàtica, congestió hepàtica, ingesta d'aliments i consum excessiu d'alcohol</li> </ul>
<b>ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse)</b> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Incorpora un ecògraf</li> <li>Major aplicabilitat que la elastografia a pacients obesos o amb ascites</li> <li>Rendiment diagnòstic de fibrosi severa i cirrosi similar a la elastografia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Manca d'estandardització de la tècnica amb valors de punt de tall reduïts per fibrosi severa i cirrosi que pot induir a error diagnòstic.</li> <li>Escassa validació</li> </ul>
<b>2D-SWE (elastografia per ona de tall 2D)</b> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Incorpora un ecògraf</li> <li>Visualització directa del fetge</li> <li>Rang de valors entre 2-150 kPa</li> <li>Bona aplicabilitat</li> <li>Bon rendiment per al diagnòstic de cirrosi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Escassa valoració</li> <li>Rendiment inferior per al diagnòstic de fibrosi moderada</li> </ul>
<b>Elastografia per ressonància magnètica</b> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Es pot implementar en un aparell de ressonància magnètica</li> <li>Explora el fetge sencer</li> <li>Aplicable en pacients obesos o amb ascites</li> <li>Excel·lent rendiment per al diagnòstic de fibrosi severa i cirrosi</li> <li>Bona correlació amb la biòpsia hepàtica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Requereix una major validació</li> <li>Experiència limitada</li> <li>Poca disponibilitat</li> <li>Necessita molt temps</li> <li>Preu elevat</li> </ul>

Adaptat i ampliat de Caballeria et al<sup>229</sup>

#### 4.3.2.2.1. Elastografia hepàtica transitòria

L'elastografia respon al principi físic que quantifica la rigidesa/elasticitat dels teixits i mesura per ultrasons la velocitat de propagació d'una ona mecànica dintre del parènquima hepàtic. La velocitat de propagació d'aquesta ona és proporcional a la rigidesa del teixit (segons la fórmula coneguda o mòdul de Young) i es pot mesurar mitjançant ultrasons o RM. Existeixen dos tipus diferents d'ones de propagació: una

longitudinal o de compressió, i una transversal o de cisallament. En base a això es poden diferenciar dues maneres de mesurar aquestes ones, i per tant dos tipus d'elastografia: elastografia qualitativa o de pressió i elastografia quantitativa o de cisallament (233).

L'elastografia per ona de cisallament és la més utilitzada. El mètode elastogràfic més senzill que mesura l'ona de cisallament és l'EH. El desenvolupament de l'EH l'any 2003 va demostrar que la quantificació de la rigidesa hepàtica en pacients amb hepatopatia crònica VHC era proporcional a l'estadi de fibrosi (234), mentre que estudis posteriors han demostrat que en pacients amb cirrosi el valor de la rigidesa hepàtica també és proporcional al grau de pressió portal (235). El Fibroscan® (Echosens™, París, France) és l'aparell que utilitza l'EH per mesurar la RH d'una manera estandarditzada i senzilla, i en el moment actual és el mètode elastogràfic de referència pel diagnòstic de fibrosi significativa/cirrosi i pel seguiment de les diferents malalties cròniques del fetge (28) (figura 15).



Figura 15. Elastografia hepàtica (Fibroscan®)

Amb la sonda M de l'elastògraf es mesura la rigidesa hepàtica mitjançant la propagació d'una ona vibratòria de baixa freqüència (50 Hz) a través del parènquima hepàtic, i el seu desplaçament (velocitat) és mesurat per una ona d'ultrasons; a major rigidesa del teixit, major és la velocitat de propagació. El mòdul de Young o mòdul d'elasticitat ( $E=3pv^2$ ) permet quantificar l'elasticitat (E) en kilopascals (kPa) coneixent la densitat del teixit (p), que en el fetge es considera constant i propera a "1", i la velocitat de l'ona de cisallament (v).

L'EH, consisteix en una sonda que emet ultrasons que a la vegada fa d'emissora i receptora, muntada en l'eix d'un vibrador, tipus pistó de baixa freqüència (50 Hz) que

genera una vibració que és transitòria, característica important perquè evita reflexes e interferències dintre dels teixits. La sonda s'ubica perpendicular a la pell, entre les costelles, a l'altura del lòbul hepàtic dret, entre la punta del estèrnum i la línia mitja axil·lar i les vibracions d'amplitud lleu i de baixa freqüència generades per el vibrador són transmises pel transductor, induint una ona elàstica de tall amb un component longitudinal que es propaga en els teixits subjacents. La velocitat de propagació es mesura en metres/segon, que és directament proporcional a la rigidesa tissular i es transformada en kilopascals (kPa). Els rangs de valors van des de 2,5 a 75 kPa, essent els valors en individus sense patologia hepàtica al voltant de 5,5 kPa (236). El volum de teixit avaluat per l'EH és 100 vegades superior al de la biòpsia hepàtica i l'àrea analitzada és un cilindre de 10 mm d'ample i 40 mm de llarg, localitzat entre 25 a 65 mm per sota la superfície de la pell. L'EH és la forma més senzilla i ràpida de mesurar la rigidesa hepàtica (figura 16).

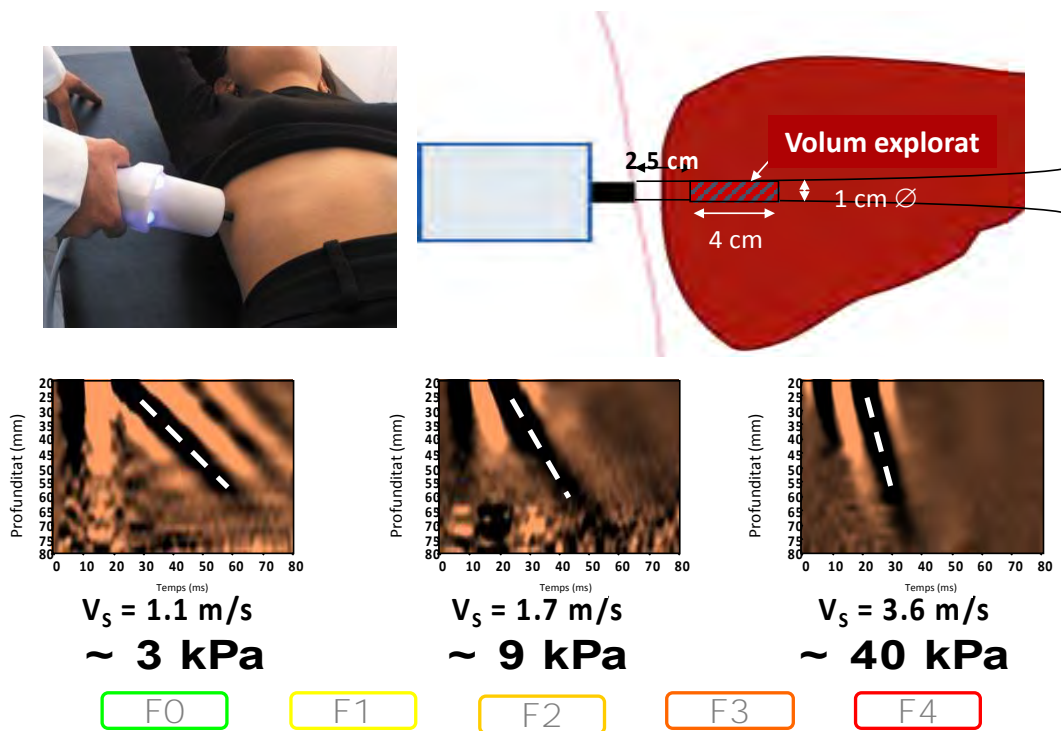


Figura 16. Elastografia hepàtica (Fibroscan®)

Els grans avantatges de l'EH són que es tracta d'una tècnica totalment incruenta i indolora, ràpida en l'exploració (menys de 5 minuts), immediata en els resultats, i fàcil de realitzar en pacients ambulatoris. La seva fiabilitat diagnòstica és excel·lent per identificar fibrosi significativa (VPP del 88%) i per descartar la presència de cirrosi hepàtica o hipertensió portal (VPN del 97%) (44,45). A més, mostra una concordança

excel·lent tant inter com intraobservador que permet repetir la prova durant el seguiment sense perdre fiabilitat (237).

Sempre s'ha de realitzar l'EH en dejú d'almenys 2 hores, ja que la ingesta provoca un augment significatiu dels valors de la RH, especialment en aquells pacients amb cirrosi (238). D'altra banda, algunes situacions clíniques com la insuficiència cardíaca (fetge d'estasi), les hepatitis agudes (necrosi hepatocel·lular), les malalties colestàtiques (congestió biliar) (239) i el consum agut d'alcohol (esteatosi i necrosi) poden sobreestimar els valors de rigidesa hepàtica sense relació amb la fibrosi, observant-se un ràpid descens dels valors amb la resolució del problema, com s'ha vist en el cas del consum d'alcohol amb la abstinència (240). Així mateix, els factors que poden atenuar l'ona de propagació són una marcada esteatosi, la cirrosi macro-nodular, l'obesitat, els espais intercostals molt estrets o la presència d'ascites (237). Altres contraindicacions són l'embaràs i el ser portador d'un marcapàs, ja que no hi ha estudis sobre l'ús de l'EH en aquestes condicions.

La mitjana de 10 determinacions vàlides és el paràmetre que s'utilitza per establir la rigidesa del fetge, i el rang interquartílic (RIQ) o diferència entre els percentils 25 i 75 mostra la dispersió dels valors. Com més baixa sigui la dispersió més representativa serà la rigidesa del total de les determinacions. Per aconseguir un valor de rigidesa fiable es recomana que el percentatge de mesures vàlides o ratio sigui superior al 60% i que la relació entre el RIQ i la RH sigui inferior a 0,30, es a dir, que hi hagi poca dispersió (241). Recentment s'han proposat uns nous criteris basats en la major importància del RIQ i del valor de la RH en lloc de la ratio (242). Aquests autors van demostrar en una cohort de 1.165 pacients, el 69% amb hepatopatia crònica VHC, que la proporció de pacients ben classificats només depenia del RIQ en aquells amb valors més alts de RH. Així, s'estableixen 3 nivells de fiabilitat: molt fiable quan el RIQ/RH és  $\leq 0,1$ ; fiable quan el RIQ/RH és  $\leq 0,3$  o el valor de la RH és  $< 7,1$  kPa; i no fiable quan el RIQ/RH és  $> 0,3$  i el valor de la RH és  $> 7,1$  kPa. Aquests criteris permeten augmentar el nombre de determinacions fiables (del 75.7% al 90.9%) ( $p < 0.001$ ) i la seva precisió diagnòstica per identificar F2-F4 o F4, AUROC del 0.835 o 0.913 al 0.886 o 0.970, respectivament ( $p < 0.001$ ). Recentment, aquests criteris han estat validats en una segona cohort de 226 pacients amb malaltia hepàtica crònica (83,2% de resultats fiables vs 71,6% amb els criteris clàssics), sense impacte d'aquest major nombre de resultats respecte a la fiabilitat diagnòstica (AUROCs) per identificar cirrosi o hipertensió portal clínicament significativa (0.852 i 0.962 comparat amb 0,863 i 0.957 pels criteris nous i clàssics,  $p = ns$ ) (243).

De manera similar als marcadors serològics, l'EH no permet diferenciar els estadis de fibrosi consecutius i de la mateixa manera que passa amb la biòpsia hepàtica pot mostrar solapament entre estadis. No obstant això, l'EH és un mètode molt fiable per excloure cirrosi hepàtica (VPN del 95%) i adequat per a identificar-la (VPP del 55%) (99). Diversos estudis han mostrat valors al voltant de 5,5 kPa en població general sense malaltia hepàtica (236) i segons resultats de meta-anàlisi suggereixen valors de 7,6 i 14,6 kPa per identificar fibrosi significativa i cirrosi, respectivament (244), i valors de 18-21 kPa per predir la presència o absència de hipertensió portal (242). Tot i això, aquests valors es veuen influenciats per l'etiologia de la malaltia hepàtica.

La indicació fonamental de l'EH és l'avaluació de la fibrosi en les malalties cròniques del fetge (236,237). La tècnica permet identificar amb bona fiabilitat a pacients amb fibrosi significativa (F2-F4) però especialment, tal i com s'ha comentat anteriorment, en els pacients amb cirrosi (245). De la mateixa manera que succeeix amb la biòpsia hepàtica i els marcadors serològics, la gran majoria de dades s'han generat en pacients amb hepatopatia crònica VHC, de manera que la seva utilitat en aquesta patologia està ben establerta (246).

A les hepatopaties associades a VHC, l'European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology (EFSUMB) ha exposat en les seves guies clíniques que valors superiors a 6,8-7,6 kPa, indiquen una alta probabilitat de presentar fibrosi significativa (F $\geq$ 2 d'acord amb l'escala METAVIR) i valors entre 11-13,6 kPa de presentar cirrosi (F4 d'acord amb l'escala METAVIR) (247). Tots els estudis demostren que l'EH té una fiabilitat excel·lent per al diagnòstic de cirrosi hepàtica, o bé per excloure els pacients sense fibrosi, sent aquesta menor per als estadis intermedis. Els diferents meta-anàlisi que s'han dut a terme fins a la data indiquen, que a l'hepatopatia crònica per VHC la sensibilitat i especificitat en definir l'estadi F $\geq$ 2 és del 78% i 79%, respectivament, i per a un estadi F4 la sensibilitat i especificitat és del 83% i 89%, respectivament (45,236,244).

L'EH ha demostrat, tant en pacients amb hepatitis crònica VHC i fibrosi avançada (F3-F4) (235) com en pacients amb recidiva severa de l'hepatitis C després del trasplantament hepàtic (248), una excel·lent correlació entre la RH (mesurada per EH) i la pressió portal (mesurada per el GPVH). No obstant, la correlació i la fiabilitat de l'EH disminueixen a mesura que augmenta la gravetat de la hipertensió portal, essent menor en pacients amb hipertensió portal severa (gradient de pressió venosa portal  $\geq$ 12



mmHg), moderada per identificar pacients amb varices esofàgiques i insuficient per determinar la mida de les varices (249). Aquesta menor correlació entre rigidesa i pressió portal en fases avançades de la cirrosi probablement sigui deguda a una major dependència dels factors vasculars i hemodinàmics que no pas a canvis estructurals del fetge.

Per altra banda, la possibilitat de repetir les exploracions ens permet una avaluació estricta del pacient i la detecció precoç de canvis en la RH. El trasplantament hepàtic constitueix un model "in vivo" excel·lent per avaluar els mètodes diagnòstics no invasius vist el curs accelerat de la infecció per el virus C després del trasplantament. Carrión et al (250), varen analitzar 52 pacients amb hepatitis C després del trasplantament i 14 controls, i se'ls hi va practicar una EH als 3, 6, 9 i 12 mesos després del trasplantament; a tots els pacients se'ls hi va realitzar una biòpsia hepàtica a l'any i es va determinar el gradient de pressió venosa portal a 47 d'ells. L'estudi va demostrar un ràpid ascens de la RH en pacients amb fibrosi significativa (F2-F4) i/o hipertensió portal (GPVH >16 mmHg), i estabilitat dels valors en pacients amb mínima o sense fibrosi (F0-F1) i/o pressió portal normal (GPVH <6 mmHg), suggerint que l'EH podia identificar precoçment a pacients "fibrosadors" ràpids i diferenciar-los dels "fibrosadors" lents, fins i tot abans de la biòpsia hepàtica.

Vergniol et al (251), han demostrat la fiabilitat de l'EH per identificar pacients amb progressió de la malaltia i risc de morir durant un seguiment de 5 anys. Els autors varen avaluar a 1.457 pacients amb hepatitis C als quals se'ls va practicar una biòpsia i determinar l'EH i el Fibrotest<sup>®</sup> entre d'altres marcadors. La supervivència als 5 anys va ser significativament inferior en pacients amb fibrosi avançada (F3-F4), EH >9,5 kPa o Fibrotest<sup>®</sup> >0,75. Es va observar una clara estratificació de la supervivència als 5 anys segons el valor de l'EH >9,5 kPa (77%), >20 kPa (66%), >30 kPa (57%), >40 kPa (47%) i >50 kPa (42%). De manera que els autors conclouen que l'EH proporciona un clar valor pronòstic, podent ser important a l'hora de decidir fins i tot la necessitat de trasplantament en subgrups de pacients amb supervivència inferior al 50% als 5 anys.

En pacients amb hepatopatia crònica VHB, Viganò et al. van descriure un sistema basat en 3 punts de tall: 6,2 kPa per excloure fibrosi significativa, 9,4 kPa per identificar fibrosi significativa i 13,1 kPa per identificar cirrosi, amb una sensibilitat i especificitat >90% i bona fiabilitat diagnòstica (252).

En l'hepatopatia alcohòlica s'han reportat valors més alts (19,5 kPa) de l'EH per al diagnòstic de cirrosi, amb una sensibilitat i especificitat del 85,7 i 84,2%, respectivament, però, tal com s'ha comentat, aquests valors poden disminuir en deixar de consumir alcohol (240).

En relació al FGNA i a l'EHNA, les malalties hepàtiques més freqüents del món occidental i associades àmpliament amb la SM, la seva progressió a cirrosi és freqüent i sovint asimptomàtica. A causa de l'alta prevalença de FGNA, l'EH pot ser una eina ideal per monitoritzar aquests pacients i seleccionar-ne aquells tributaris de realitzar biòpsia hepàtica. En els pacients amb FGNA els valors són molt discordants, però de manera general podem considerar que un valor de 7,9 kPa permetria identificar els pacients amb fibrosi significativa. Tampoc està clar quin seria el millor punt de tall per identificar pacients amb cirrosi hepàtica. Així, alguns estudis suggereixen un valor de 10,3 kPa (253) si bé, segurament, aquest punt de tall sigui fins i tot superior, per al que s'ha vist en els pacients amb hepatopatia crònica VHC.

Pel que fa a les limitacions de l'EH, la probabilitat d'obtenir un resultat inadequat d'EH és d'un 20% (2,2-3,1% sense cap mesura vàlida i 11,6%-15,8% amb resultat inadequat). Per tant, la seva aplicabilitat és inferior a la dels marcadors serològics, tot i la utilització dels nous criteris de qualitat. Els factors que s'han relacionat de forma independent amb l'obtenció de mesures inadequades són l'obesitat del pacient (IMC >28-30 kg/m<sup>2</sup>) i la poca experiència de l'explorador (237). Però, cap estudi previ ha demostrat que l'augment de l'experiència de l'explorador o disminuir l'IMC del pacient permeti augmentar la fiabilitat diagnòstica de l'EH per identificar el grau de fibrosi.

Per tal de millorar l'aplicabilitat de l'EH en pacients amb obesitat, Echosens<sup>TM</sup> ha dissenyat una sonda (Sonda XL<sup>®</sup>, Echosens<sup>TM</sup>, Paris, France) amb una major penetració sota la superfície cutània (35-75 mm), i que ha demostrat obtenir un major nombre de mesures fiables que la sonda M en aquells pacients amb una distància entre la pell i la càpsula hepàtica o de Glisson (distància pell-càpsula, DPC) de més de 25 mm (254,255). A l'estudi de Myers i cols (256) es van avaluar pacients amb IMC>28 kg/m<sup>2</sup> i es va obtenir un valor fiable amb sonda XL en el 60% de pacients on la sonda M no l'havia obtingut, amb una aplicabilitat en pacients obesos del 73% comparada amb el 50% de la sonda M (p<0.001). Però la utilització de la sonda XL també té les seves limitacions: 1) Obté una aplicabilitat baixa en pacients amb obesitat mòrbida (IMC>40 kg/m<sup>2</sup>) (254); 2) La validació dels punts de tall en el diagnòstic de la fibrosi hepàtica s'ha realitzat amb la sonda M (43); i el 3) els estudis de referència han mostrat valors més

baixos amb la sonda XL que els obtinguts amb la sonda M obligant a la cerca de nous punts de tall (256) o a la utilització de fórmules de correcció per derivar el valor obtingut amb la sonda XL a un valor teòric amb la sonda M. D'altra banda, la sonda M mostra valors més alts en individus obesos sense fibrosi hepàtica i en pacients amb FGNA i IMC elevat (257).

D'acord amb les instruccions del fabricant, la decisió d'utilitzar la sonda M o la sonda XL cal fer-la en base a la DPC (inferior o superior a 25 mm, respectivament). Tanmateix, l'aparell de Fibroscan® realitza aquesta recomanació de forma automatitzada en base al número de mesures no vàlides amb la sonda M i una anàlisi qualitativa de l'elastograma. D'altra banda, les guies clíniques actuals recomanen utilitzar la sonda XL en pacients amb IMC > 30 kg/m<sup>2</sup> (28,258), però la relació entre IMC i DPC és moderada com s'ha demostrat en estudis previs en pacients obesos on la mediana de la DPC va ser < 25 mm, tot i que la relació entre aquestes variables no està encara ben definida (254) Myers, (259). Per tant, és molt important identificar aquells pacients amb sobrepès o obesitat que es poden avaluar correctament amb la sonda M i aquells que en canvi requeriran la sonda XL.

Un aspecte important, i en part objectiu de la present tesi, és el paper que pot tenir l'EH en la detecció precoç de la fibrosi hepàtica en la població general sense malalties hepàtiques prèviament conegudes, tal i com es reflecteix en una recent revisió (260). Ja s'ha comentat l'alta prevalença de les malalties hepàtiques cròniques, especialment el FGNA i la seva poca expressivitat clínica fins fases molt avançades. Els pocs estudis duts a terme fins ara mostren un augment de la RH entre el 5,6 i el 7,5% de la població general, percentatge que augmenta fins al 18 i el 27% en subjectes amb factors de risc, el que confirma l'alta prevalença d'aquestes malalties. L'EH aïllada o en combinació amb algun marcador serològic seria un bon mètode per identificar aquests pacients en fases presintomàtiques i, per això, susceptibles de tractament.

#### **4.3.2.2.2. *Controlled attenuation parameter.***

És una nova aplicació de l'EH disponible en els aparells d'última generació. El *controlled attenuation parameter* (CAP) mesura el grau d'atenuació (expressat en dB/m i variable entre 100 i 400 dB/m) de l'ona d'ultrasons transmesa a través del fetge a la freqüència central del transductor habitual (Sonda M, 3,5 MHz), que és proporcional a la quantitat de greix hepàtic (figura 17). Permet determinar de forma immediata i no invasiva l'esteatosi; el mesurament és contemporani al de RH i, per tant, pateix de les mateixes

limitacions. Va ser validat per primera vegada com una estimació de l'atenuació ultrasònica a 3,5 MHz. En un estudi dut a terme al 2010, tenint el grau histològic de l'esteatosi com a referència, es va correlacionar significativament amb esteatosi (Spearman  $p=0,81$ ,  $p<10^{-16}$ ) amb una AUROC de 0,91 i 0,95 per a la detecció de més del 10% i 33% de l'esteatosi respectivament (261).

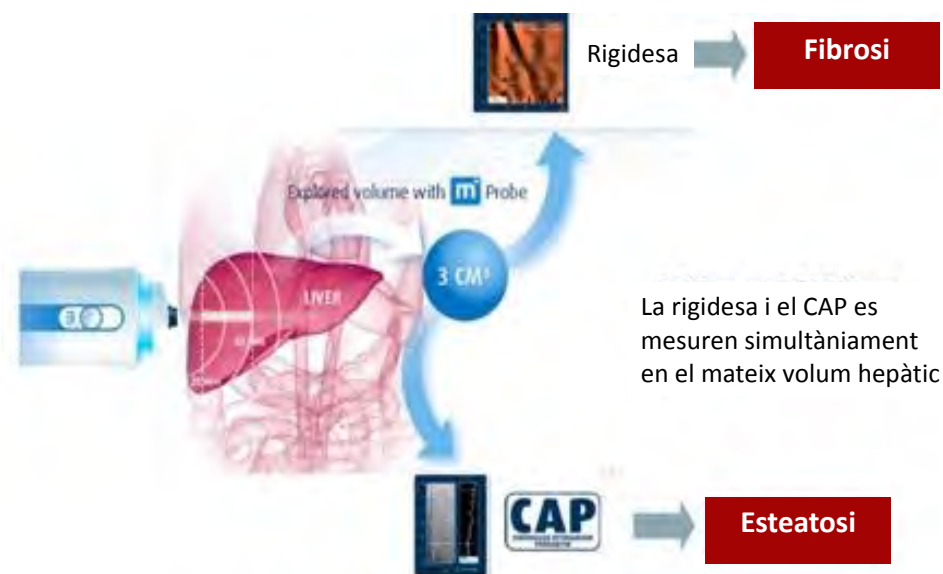


Figura 17. Elastografia hepàtica i CAP (Fibroscan®).

Els valors que utilitza són decibels/metre (dB/m), mostrant una bona correlació amb l'esteatosi avaluada per biòpsia ( $k=0,81$ ). Així, un valor de 283 dB/m permet identificar pacients amb valors  $\geq 10\%$  d'esteatosi amb un VPP del 87% i VPN del 64%, si bé segons es desprèn d'una metaanàlisi, la mesura es pot veure afectada per la presència de FGNA, augment de l'IMC o DM2 havent-se d'ajustar els valors del CAP (258).

#### 4.3.2.2.3. Acoustic Radiation Force Impulse.

La radiació acústica per impuls de força (ARFI) és també un mètode diagnòstic que permet avaluar de forma indirecta la fibrosi hepàtica. Concretament, aquesta tècnica ha estat desenvolupada per Siemens® i es troba integrada en un equip d'ecografia convencional que, mitjançant l'ús d'una sonda que emet un estímul acústic guiat per ecografia que fa vibrar el teixit i sense necessitat de compressió externa, avalua la rigidesa del teixit hepàtic per mitjà de la velocitat (m/s) a la que una ona elàstica generada per un impuls acústic travessa la regió d'interès (262). Si bé aquest mètode quantitatiu proporciona una única mesura unidimensional de la rigidesa de l'òrgan (com el Fibroscan®), es poden obtenir diverses imatges que permeten generar una imatge en

mode B de dues dimensions. La regió obtinguda acostuma a ser d'uns 10x5 mm de superfície (263) i pot ésser analitzada en la imatge bidimensional en mode B fins a un màxim de 8 cm de profunditat des del pla de la pell. Així doncs, aquesta modalitat diagnòstica aporta informació estructural a les propietats morfològiques que mostra l'ecografia i permet obtenir resultats quantitius mesurables de manera objectiva. El fet d'utilitzar l'ecografia per visualitzar l'àrea a analitzar i un pols amb elevat poder de penetració podria augmentar la seva utilització, especialment en pacients amb obesitat. El valors d'ARFI es troben en un rang de 0,5-4,4 metres/segon (264). Diversos estudis han demostrat una excel·lent fiabilitat per identificar fibrosi significativa i cirrosi, comparable a l'EH, en diferents malalties cròniques del fetge (264-266). Així, en dos metanàlisis, es demostra una bona fiabilitat diagnòstica per estadis de fibrosi significativa i severa ( $F \geq 3$ ), amb AUROC de 0,84 i 0,89, respectivament i una major exactitud en el diagnòstic de cirrosi, amb una AUROC de 0,91 (267,268). En individus sans, els valors es troben al voltant de la unitat (267). Si bé el procediment es ràpid, indolor i fàcil de realitzar, la regió d'avaluació es petita i les mesures d'elasticitat no s'obtenen en temps real. A més a més, tampoc existeix cap criteri quantitatiu per acceptar o excloure una mesura.

#### **4.3.2.2.4 Elastografia per ressonància magnètica.**

L'elastografia per ressonància magnètica (RME) aplica una ona mecànica sobre tota la superfície hepàtica de manera que s'obté el desplaçament del parènquima hepàtic per RM i el *software* genera un elastograma amb codi de colors (des del blau elàstic al vermell rígid). El volum avaluat és la pràctica totalitat del fetge excloent l'hili hepàtic. De la mateixa manera que l'EH, transforma la velocitat de propagació de l'ona mecànica a kPa i el rang de valors va des de 1,1 a 8,0 kPa. Malgrat el nombre reduït d'estudis i el petit nombre de pacients analitzats, els resultats publicats mostren una excel·lent fiabilitat diagnòstica per identificar pacients amb diferents estadis de fibrosi (269,270), i malaltia grassa del fetge (271). Huwart et al (270), avaluaren una cohort de 88 pacients (66 d'ells amb hepatitis crònica VHC) obtenint una fiabilitat excel·lent per identificar pacients amb fibrosi significativa (F2-F4) o cirrosi (F4) (AUROC: 0,99 i 1,00, respectivament). No obstant, aquesta tècnica requereix d'un temps d'exploració d'uns 30 minuts, un procés d'interpretació minucios de les imatges per personal experimentat i pot estar limitada en pacients amb claustrofòbia o pròtesi metàl·liques. Malgrat això, sembla una tècnica excel·lent, sobre tot per aquells pacients en els què l'EH no es pugui realitzar.

#### **4.3.2.2.5. *Real time shear wave elastography.***

L'elastografia d'ona de tall elàstic en temps real (real time shear wave elastography o SWE) és una tècnica més nova, que utilitza un sistema Aixplorer US (Super Sonic Imagine S.A., Aix-en-Provence, France). A diferència de l'elastografia convencional, no requereix compressió manual i pot computar l'elasticitat per la mesura de la velocitat de les ones mentre es propaguen. En la SWE, les ones elàstiques són creades per la força de radiació acústica generada per polsos ultrasonogràfics focalitzats. La velocitat s'estima per adquisició per doppler, i és usada per calcular la rigidesa en kilopascals. Aquesta estimació es codifica en color mostrant una imatge bidimensional quantitativa de la rigidesa. La posició i grandària de la imatge és ajustable, i això permet escollir una regió d'interès. La comparació de SWE en temps real amb l'EH va demostrar una millora important en la identificació de fibrosi significativa (AUROC 0,92 versus 0,84 respectivament), encara que va ser similar en l'avaluació de fibrosi severa i cirrosi (282).

#### **4.3.2.3. Marcadors serològics**

Els marcadors serològics de fibrosi són una alternativa a la biòpsia hepàtica. Són menys invasius i no tenen complicacions. A causa d'aquestes característiques poden ser utilitzats de manera repetida per monitoritzar a la pràctica clínica el procés dinàmic de la fibrosi. Els marcadors serològics de fibrosi hepàtica poden ser directes i indirectes.

##### **4.3.2.3.1. Marcadors serològics indirectes**

Els marcadors indirectes, o també anomenats de classe II, són la primera aproximació per estudiar la funció hepàtica i determinar el potencial grau de fibrosi en el fetge. En aquest grup s'engloben els elements alliberats a la sang a causa de la inflamació i el dany hepàtic, les molècules sintetitzades o metabolitzades pel fetge i també els processos habitualment interromputs a causa de la disfunció hepàtica com la RI (273). Es tracta dels clàssics marcadors bioquímics obtinguts de l'anàlisi rutinari de funció hepàtica dels laboratoris clínics. Entre ells s'inclouen l'ALT, AST, el recompte de plaquetes, la gamma glutamiltransferasa (GGT), la bilirubina total, la fosfatasa alcalina, el temps de protrombina, i els tradicionals marcadors sèrics relacionats amb la inflamació com l'haptoglobina, l'apolipoproteïna-A1 i la  $\alpha$ 2-macroglobulina, entre d'altres (274). Aquests marcadors no es relacionen directament amb el procés de fibrosi hepàtica, però poden identificar o excloure amb precisió a pacients amb malaltia avançada (taula 4). Per tal de millorar la capacitat diagnòstica d'aquests marcadors serològics, s'han desenvolupat una gran varietat d'índexs que s'obtenen de la

combinació d'alguns dels marcadors indirectes exposats. Per definició, un índex està format per la combinació de diferents paràmetres, com biomarcadors directes i/o indirectes, paràmetres demogràfics com l'edat i el sexe que, mitjançant diferents fórmules matemàtiques, permeten incrementar l'eficàcia diagnòstica envers els biomarcadors per separat. La majoria d'aquests marcadors, han estat abastament avaluats en pacients amb hepatitis crònica VHC. Hi ha models senzills que combinen variables clíniques com l'edat (38,40,147,275,276) o l'IMC (39) amb mesures de laboratori com la xifra de plaquetes (38-40,147,276,277), l'AST (39,40,275-278) o l'ALT (38-40,275,276), i models més complexos com el Fibrotest® (35), que combina la GGT, bilirubina,  $\alpha$ 2-macroglobulina, haptoglobina, i apolipoproteïna A1. Aquests índexs permeten classificar de forma correcta, evitant la realització de biòpsies hepàtiques al voltant del 30-50% dels pacients. No obstant, la seva fiabilitat és baixa per diferenciar estadis intermedis (F1-F2) de fibrosi (278).

Taula 4. Índexs serològics més utilitzats en la pràctica clínica

Índex	Etiologia	Variabls	AUROC	Punts de tall	S (%)	E (%)
Fibrotest®	VHC	Fórmula patentada que combina $\alpha$ -2-macroglobulina, GGT, apolipoproteïna A1, haptoglobina, bilirubina total, edat i sexe	0,84	0,3 0,7	92 25	71 97
Forns	VHC	$7.811 - 3.131 \times \ln(\text{plaquetes}) + 0.781 \times \ln(\text{GGT}) + 3.467 \times \ln(\text{edat}) - 0.014 \times (\text{colesterol})$	0,81	<4,4 >6,9	30 94	51 95
APRI	VHC	$\text{AST (ULN)/plaquetes (109/L)} \times 100$	0,80	$\leq 0,5$ $\geq 1,5$	41 91	47 95
FIB-4	VHC	$\text{Edat (anys)} \times \text{AST [U/L]/(plaquetes [10}^9\text{/L)} \times (\text{ALT [U/L]})^{1/2}$	0,85	<1,45 >3,25	38 74	81 98
	FGNA		0,80	<1,30 >2,67	74 33	33 98
Hui	VHB	$3.148 + 0.167 \times \text{IMC} + 0.088 \times \text{bilirubina} - 0.151 \times \text{albúmina} - 0.019 \times \text{plaquetes}$	0,79	$\leq 0,15$ >0,5	37 88	50 88
NAFLD fibrosis score	FGNA	$(-1.675 + 0.037 \times \text{edat (anys)} + 0.094 \times \text{IMC (kg/m}^2) + 1.13 \times \text{IFG/diabetis (si = 1, no = 0)} + 0.99 \times \text{quocient AST/ALT} - 0.013 \times \text{plaquetes (x109/L)} - 0.66 \times \text{albúmina [g/dl]})$	0,88	$\leq -1,455$ $\geq 0,676$	82 51	77 98
ELF®	VHC	Fórmula patentada que combina edat, àcid hialurònic, procol·lagen III (PIIINP) i inhibidors de las metalo-proteinases 1 (TIMP1)	0,89	<7,7 $\geq 11,3$	n.d.	n.d.
	FGNA		0,93	-0,1068 0,3576	90% 80%	75% 90%
Fibrometer®	VHC	Fórmula patentada que combina plaquetes, protrombina, AST, $\alpha$ -2-macroglobulina, àcid hialurònic, urea i edat	0,89	n.d.	80	84
Fibrometer®	HGNA	Fórmula patentada que combina $0,4184 \text{ glucosa (mmol/L)} + 0,0701 \text{ AST (IU/L)} + 0,0008 \text{ ferritina (mg/L)} - 0,0102 \text{ plaquetes (10}^9\text{/L)} - 0,0260 \text{ ALT (IU/L)} + 0,0459 \text{ pes corporal (kg)} + 0,0842 \text{ edat (anys)} + 11,6226$	0,94	n.d.	n.d.	n.d.
eLIFT	Fibrosis eLIFT	Edat, sexe, GGT, AST, plaquetes i taxa de protrombina	0,85	$\geq 8$ punts	94	
	eLIFT-FM <sup>VCTE</sup>			$\geq 8$ punts 0.715	91	76
FLI	FGNA	$(e^{-0.953 \times \log_e(\text{triglicèrids})} + 0.139 \times \text{IMC} + 0.718 \times \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{perimetre abdominal} - 15.745) / (1 + e^{-0.953 \times \log_e(\text{triglicèrids})} + 0.139 \times \text{IMC} + 0.718 \times \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{perimetre abdominal} - 15.745)) \times 100$	0,81	<30 30-60 >60		61 82

S: sensibilitat; E: especificitat; VHC: hepatopatia crònica virus C; FGNA: fetge gras no alcohòlic; VHB: hepatopatia crònica virus B; ELF: enhanced liver fibrosis; eLIFT: easy liver fibrosis test; FM<sup>VCTE</sup>: FibroMeter (FM) amb elastografia transitòria controlada per vibració (VCTE); FLI: Fatty Liver Index. Adaptat i ampliat de Caballeria et al<sup>229</sup>

A continuació es descriuen els diferents índexs indirectes de fibrosi.

#### **4.3.2.3.1.1. FibroTest**

El primer índex, descrit per Imbert-Bismut l'any 2001 i aplicat als pacients amb hepatopatia crònica VHC va ser el FibroTest. Aquest índex consta d'una fórmula patentada (BioPredictive, Paris, França) on es combinen marcadors directes i indirectes, com ara  $\alpha$ 2-macroglobulina (reactant de fase aguda i inhibidor de proteases), haptoglobina (amb una associació negativa amb la fibrosi), apolipoproteínaA1 (associada amb la fibrosi i lligada a proteïnes de la matriu extracel·lular), la GGT i la bilirubina total, permetent identificar pacients amb fibrosi significativa de manera precisa (sensibilitat de 75%, especificitat 85% i VPP de 92%), permetent evitar la pràctica de biòpsia hepàtica en gairebé la meitat dels pacients com a indicació d'inici de tractament (35). En una metaanàlisi sobre 6.378 pacients, més de la meitat de pacients amb hepatopatia crònica VHC, el FibroTest va mostrar un valor per sota de la corba AUROC de 0,84 (IC95%:0,83-0,86) per al diagnòstic de fibrosi significativa (279). Posteriorment també s'ha emprat en altres etiologies. Malgrat això, a causa de la variabilitat existent a l'hora de determinar els diferents components, l'avaluació del FibroTest només es pot realitzar en laboratoris validats.

#### **4.3.2.3.1.2. Índex AST/ALT**

Potser, el primer test per detectar la presència d'una fibrosi significativa va ser una relació  $AST/ALT > 1$ , que presenta un VPP per a cirrosi en pacients amb hepatopatia crònica per VHC del 89%, amb una sensibilitat del 53% i una especificitat del 19%, en absència de consum d'alcohol, encara que no és útil per predir els graus lleus de la fibrosi hepàtica (280).

#### **4.3.2.3.1.3. Índex APRI**

APRI (AST-to-Platelet Ratio Index), és un índex que utilitza dues variables bioquímiques de rutina com són la AST i el recompte de plaquetes (39). El valor de l'índex s'obté a través de la fórmula següent:

$$APRI = [(AST/LSN) / \text{plaquetes} (x10^9/l)] x 100.$$

*LSN: Límit superior de la normalitat de la AST.  
Un valor <0.5 no fibrosis y un valor >1.5 fibrosis. Entre 0.5-1.5 indeterminat.*

Aquest índex inclou l'AST on la seva excreció es redueix en la fibrosi avançada i el recompte de plaquetes, que es veu afectat amb l'augment de la hipertensió portal, a



més d'altres factors. Un punt de tall  $\leq$  de 0,5 i un altre de superior a 1,5 classifica correctament com a fibrosi significativa o no en un 51% dels pacients amb un VPP del 88% i descarta la cirrosi amb un VPN del 93%. Estudis posteriors van demostrar variabilitat en l'exactitud diagnòstica, i segons una revisió sistemàtica, sobre 4.266 pacients amb hepatitis crònica VHC, van mostrar una AUROC de 0,76 (IC95%:0,74-0,79) i 0,82 (IC95%:0,79-0,86) per fibrosi significativa i cirrosi, respectivament (281).

Aquest índex ha estat validat com a marcador de fibrosi hepàtica significativa en pacients coinfectats VHC i VIH, i recentment s'ha utilitzat per determinar la fibrosi avançada en els pacients VIH-monoinfectats.

#### **4.3.2.3.1.4. Índex Forns**

Aquest model predictiu combina l'edat del pacient, els nivells de GGT, les plaquetes i el colesterol com a variables predictores de fibrosi (38). La reducció dels nivells de colesterol es relaciona amb la disminució de la síntesi associada a la fibrosi avançada i cirrosi, encara que altres mecanismes també hi poden intervindre. Els nivells de GGT elevats poden explicar-se per lesió dels conductes biliars o per l'increment del factor de creixement epidèrmic, que estan associats a la fibrosi. Gràcies a aquest índex es pot predir la presència de fibrosi significativa o cirrosi en pacients amb VHC i, conseqüentment, evitar la realització d'una biòpsia hepàtica en un terç d'aquest col·lectiu. La fórmula per obtenir el valor de l'índex és la següent:

*Forns* =  $7,811 - 3,131 \times \ln(\text{plaquetes}) + 0,781 \times \ln(\text{GGT}) + 3,467 \times \ln(\text{edat}) - 0,014 \times (\text{colesterol})$ .

Un cop obtingut el valor numèric, si aquest és inferior a 4,21 es pot considerar que no hi ha fibrosi significativa. Valors majors de 6,9 indiquen presència de fibrosi significativa, amb una sensibilitat del 94%, una especificitat del 51% i un VPN del 96%. A més de la seva utilitat en la predicció de fibrosi, la combinació amb la virèmia detectada per PCR permet estimar la probabilitat de resposta al tractament antiviral.

#### **4.3.2.3.1.5. Índex FIB-4**

El FIB-4 combina les variables edat, plaquetes, AST i ALT. Desenvolupat per predir fibrosi hepàtica en pacients amb coinfecció VIH-VHC, els autors van demostrar que el 87% dels 198 pacients amb valors FIB-4 fora dels punts de tall podien ser correctament classificats, i es podria evitar la biòpsia hepàtica en el 71% de pacients del grup de validació (40). La fórmula per obtenir el valor de l'índex és la següent:

*FIB-4= edat x AST / (plaquetes) x ALT (U/l)<sup>1/2</sup>.*

El grup francès de Vallet-Pichard va comparar el FIB-4 amb el resultat de la biòpsia i el Fibrotest, en un estudi sobre 847 pacients amb VHC. El FIB-4 va diagnosticar correctament als pacients amb fibrosi severa i cirrosi amb un valor de AUROC del 0,85 i 0,91 respectivament. Un índex FIB-4 <1,45 va tenir un VPN del 94,7% per excloure fibrosi severa amb una sensibilitat del 74,3%. Un índex FIB-4 >3,25 va tenir un VPP per diagnosticar fibrosi severa (F3-F4) del 82,1% amb una especificitat del 98,2%. El FIB-4 es va correlacionar estretament amb el FibroTest amb un valor de l'índex <1,45 o >3,25 (k=0,561, p <0,01). Un FIB-4 <1,45 o >3,25 (64,4% dels casos) va ser concordant amb el FibroTest al 92.1% i el 76% respectivament (282). Aquest índex és de fàcil aplicabilitat i segons una revisió (283), el FIB-4 és un dels índexs millor avaluats fins ara per ser utilitzat, junt amb el NFS i el Fibrotest®, en els malalts amb FGNA.

En pacients amb VHB la dificultat de desenvolupar índexs és més gran, a causa de la fluctuació del nivell de les transaminases, que tradueixen l'activitat necroinflamatòria, però sense relació directa amb l'estadi de fibrosi. Hui et al. van dissenyar un índex amb variables fàcils d'obtenir, com ara plaquetes, bilirubina i albúmina, amb una bona fiabilitat per descartar fibrosi significativa (VPN del 92%) (284).

#### **4.3.2.3.1.6. Índex NAFLD Fibrosis Score (NFS)**

En pacients amb FGNA els índexs més validats són el NFS, el FIB-4, l'ELF i el FibroTest. El NFS combina l'edat, hiperglucèmia, IMC, plaquetes, albúmina i quocient AST/ALT per la presència o absència de fibrosi significativa. La fórmula per obtenir el valor de l'índex es la següent:

*NFS=-1.675 + 0.037 edat + 0.094 IMC + 1.13 diabetis + 0.99 x AST/ALT -0.013 plaquetes - 0.66 albúmina.*

En l'estudi de validació es van incloure un total de 733 pacients diagnosticats de FGNA per biòpsia, dels quals es van obtenir dos grups, 480 per construir el model i 253 per a validar-lo, observant que aquestes 6 variables eren indicadores independents de fibrosi avançada, de manera que, per al diagnòstic de fibrosi en pont o de cirrosi, la corba AUROC del NFS va ser de 0,88 i de 0,82, respectivament. Un valor <-1,455, present en el 61% dels casos, va excloure l'existència d'una fibrosi significativa amb una elevada precisió (VPN del 93% i el 88% en el grup d'estimació i en el de validació, respectivament). Desplaçant el punt de tall per sobre de 0,676 la presència de fibrosi

avançada podria diagnosticar-se amb elevada precisió (VPP del 90 i 82%, respectivament). Aplicant aquest model, la biòpsia hepàtica podria haver-se evitat en 549 (75%) dels 733 pacients, amb correcta predicció en 496 pacients (90%) (276). Aquests resultats van ser posteriorment validats per Guha et al., els quals van reportar, a més, que la combinació dels índexs NFS i ELF són més precisos, amb una AUROC de 0,93 per a la fibrosi septal i de 0,98 per a la fibrosi en pont o cirrosis (284).

En pacients amb FGNA els punts de tall de FIB-4 són de 1,30 i 2,67 per excloure o diagnosticar fibrosi significativa. No obstant això, un recent estudi (285) ha posat en relleu que amb aquests punts de tall no s'identifica correctament la fibrosi significativa en els pacients amb edat superior a 65 anys. Aquest mateix fenomen esdevé amb el NFS. En aquest estudi sobre 634 subjectes amb FGNA diagnosticats per biòpsia dels quals el 25% tenien fibrosi avançada, es va obtenir una especificitat de NFS i FIB-4 baixa per al diagnòstic de fibrosi avançada (<35%) en els subjectes majors de 65 anys. Aquests autors van proposar els punts de tall de NFS >0,12 i FIB-4 >2,0 amb el que es reduirien els falsos positius en un 35% i 50% per FIB-4 i NFS, respectivament.

#### **4.3.2.3.1.7. Easy liver fibrosis test.**

Darrerament s'han publicat els resultats d'un nou algorisme diagnòstic, denominat easy liver fibrosis test (eLIFT), amb la finalitat de diagnosticar o excloure fibrosi significativa en qualsevol nivell assistencial (286). Amb aquesta finalitat es van estudiar prospectivament 3.754 pacients (2.503 per derivació i 1.275 per a validació) amb HC. L'algorisme està constituït per les variables edat, sexe, GGT, AST, plaquetes i taxa de protrombina. De manera que una puntuació  $\geq 8$  és diagnòstica de fibrosi significativa. Aquest algorisme es va comparar amb 8 marcadors de fibrosi. En la fase de validació, eLIFT i FIB-4 van tenir la mateixa sensibilitat (78,0% enfront de 76,6%,  $p=0,470$ ), però eLIFT va presentar menys falsos positius, especialment en pacients amb edat  $\geq 60$  anys (53,8% enfront de 82,0%,  $p<0,001$ ), sent per tant més adequat com a prova de cribratge. FibroMeter (FM) amb EH controlada per vibració (VCTE) va ser la més precisa entre les 8 proves de fibrosi avaluades. La sensibilitat de l'algorisme eLIFT-FM<sup>VCTE</sup> (eLIFT de primera línia, FibroMeter<sup>VCTE</sup> de segona línia) va ser del 76,1% per la fibrosi avançada i del 92,1% per a la cirrosi. Aquest nou algorisme, anomenat eLIFT-FM<sup>VCTE</sup>, identifica amb precisió aquells pacients amb hepatopatia crònica avançada que necessiten derivació a l'especialista i aquells sense o amb lesions hepàtiques lleus que poden romandre sota control pel seu metge habitual.

#### 4.3.2.3.1.8. Fatty Liver Index.

Finalment esmentar que entre els marcadors serològics indirectes n' existeixen també per identificar la presència d'esteatosi hepàtica, com ara el Fatty Liver Index (FLI). Aquest índex utilitza els valors de triglicèrids, IMC, GGT i el perímetre abdominal per realitzar un càlcul mitjançant la següent fórmula:

$$FLI = \frac{(e^{0.953 \cdot \log_e(TAG)} + 0.139 \cdot BMI + 0.718 \cdot \log_e(GGT) + 0.053 \cdot WC - 15.745)}{(1 + e^{0.953 \cdot \log_e(TAG)} + 0.139 \cdot BMI + 0.718 \cdot \log_e(GGT) + 0.053 \cdot WC - 15.745)} \cdot 100$$

De manera que, segons el resultat del mateix, la presència d'un FLI <30 exclouria la presència d'esteatosi hepàtica i un FLI ≥60 demostraria la presència d'esteatosi hepàtica.

Bedogni i col·laboradors van elaborar el FLI (287) sobre un total de 224 subjectes procedents de l'estudi Dionysos amb sospita de patir una malaltia hepàtica (excloent els pacients amb hepatitis B i C) i que van ser comparats amb 287 subjectes sense sospita de malaltia hepàtica. Una limitació important d'aquest estudi va ser que el diagnòstic d'esteatosi es va realitzar a través de l'ecografia hepàtica i no a través de biòpsia. No obstant això, s'ha validat en un estudi poblacional recent en comparació amb l'ecografia abdominal (288). El FLI és fàcil d'obtenir i pot ajudar a seleccionar els subjectes que es beneficiarien d'una valoració ecogràfica, per intensificar canvis en l'estil de vida i per seleccionar pacients per a estudis epidemiològics.

Encara que la identificació d'estadis individuals de fibrosi no és encara possible, aquests índexs permeten classificar de forma correcta, evitant la pràctica d'una biòpsia hepàtica, entre el 50-70% dels pacients amb fibrosi significativa o no significativa, amb un alt VPP i VPN. El principal avantatge que ofereixen és la seva gran aplicabilitat i reproductibilitat entre laboratoris. La seva major limitació és que no són suficientment sensibles per identificar estadis lleus de fibrosi (F1-F2) però amb risc de progressió (278).

#### 4.3.2.3.2. Marcadors serològics directes

Alguns marcadors sèrics poden reflectir la dinàmica de la fibrosi que succeeix en el fetge, és a dir, la síntesis o fibrogènesi i la degradació o fibròlisi de la MEC. Segons diferents estudis, no solament serien d'utilitat en determinar el grau d'activitat del recanvi de la MEC, sinó també el grau de severitat de la fibrosi. Aquests marcadors doncs, al ser capaços de detectar de forma directa els desequilibris que es produeixen entre la degradació i la producció de la MEC, són clínicament rellevants tant per realitzar una

estadificació de la fibrosi hepàtica com per monitoritzar l'activitat fibrinogènica i la degradació de les proteïnes de la MEC (228). Es caracteritzen per ser fragments dels components que formen la MEC i productes del metabolisme del col·lagen, els quals són produïts per les HSC durant el procés fibrogènic (289). Un exemple d'aquest grup de marcadors són el col·lagen tipus I, la fibronectina, l'àcid hialurònic (AH), TIMP-1 o el propèptid aminoterminal del procol·lagen tipus III (PIIINP). Malauradament, la majoria dels estudis realitzats fins ara presenten certes limitacions, no només en el procés de validació, sinó també en la seva capacitat diagnòstica i pronòstica (224,289). Així doncs, i per intentar millorar aquestes capacitats, s'han desenvolupat també diversos índexs que combinen diferents marcadors directes. Un dels més coneguts és l'ELF, el qual es va obtenir després d'un estudi multicèntric internacional en 1.021 pacients amb diferents malalties hepàtiques (290). Com veurem, inicialment, aquest índex tenia en consideració l'edat dels pacients, però el 2008 es va validar la puntuació de l'algorisme només tenint en compte els valors sèrics de 3 marcadors directes. A continuació es defineixen cadascun d'ells:

- L'AH és un glucosaminoglican de la MEC sintetitzat per les HSC i degradat per les cèl·lules endotelials sinusoidals. S'han detectat valors elevats d'AH particularment en la cirrosi, relacionat probablement amb una menor capacitat per remoure's a conseqüència de la disfunció sinusoidal endotelial, a més de reflectir l'augment en la fibrogènesi (291). És el test individual que correlaciona millor amb el grau de fibrosi i severitat d'inflamació (292) almenys en estudis d'HA, i s'ha demostrat un valor predictiu major del 90% en l'exclusió de cirrosi (293).

- El PIIINP, és el producte de l'escissió de l'extrem N-terminal del procol·lagen tipus III al seu pas a col·lagen III, el qual és sintetitzat durant la fibrogènesi hepàtica per les HSC (289). És un dels marcadors més estudiats, es relaciona amb la fibrogènesi, i posa de manifest l'estadi de fibrosi en hepatitis viral, alcohòlica i colangitis biliar primària (294). El col·lagen tipus IV, els nivells del qual expressen degradació de la matriu, ha mostrat correlació amb la fibrosi en l'hepatitis alcohòlica, encara que no s'han demostrat avantatges sobre l'AH (295).

- El TIMP-1, és una proteïna que interacciona amb les metal·loproteïnases (MMP) tot inhibint la seva activitat i funcionament. Diversos estudis apunten que valors elevats tant de TIMP com de MMP es correlacionen bé amb el procés cirròtic (294,296).

Cap d'aquests marcadors són específics hepàtics i en la seva majoria els nivells són afectats per canvis en el seu metabolisme o excreció. No obstant això, en un ampli estudi sobre 921 pacients, la selecció d'una combinació d'aquests marcadors en un algorisme per generar un marcador, anomenant OELF (originalment reportat com a European Liver Fibrosis), que va incloure el PIIINP, AH, TIMP-1 i l'edat, va demostrar ser específic i sensible en l'avaluació de la fibrosi hepàtica en les HC de diferents etiologies, amb un VPN major del 90% per el diagnòstic de fibrosi significativa (290). En un estudi posterior en pacients amb hepatitis crònica VHC el marcador ELF per simplificació del marcador original en excloure l'edat, va demostrar que podria evitar la realització de la biòpsia hepàtica correctament en el 65% dels pacients amb fibrosi avançada (297). A més, aquest marcador ha estat investigat en altres malalties hepàtiques. Així, en un estudi va demostrar una bona fiabilitat per identificar fibrosi i progressió de la malaltia en el FGNA amb AUROCs de 0,90, 0,82 i 0,78 corresponent a fibrosi severa, moderada i absent, respectivament (284). En pacients amb hepatitis crònica per VHB, el seu rendiment va ser bó, encara que inferior a l'EH per identificar fibrosi severa i cirrosi (298). En un recent estudi, en el que es van determinar valors de referència per l'ELF en 400 controls sans i en 79 pacients amb hepatitis crònica VHC, el rang va ser entre 6,7 i 9,8 amb valors superiors en homes y en determinacions diürnes. Es van identificar els punts de tall de 7,7 per excloure presència de fibrosi i de 9,8 per identificar fibrosi moderada amb alta especificitat, i d'11,3 per discriminar cirrosi (sensibilitat de 83% i especificitat de 97%) (299). Aquest marcador, també va demostrar una bona fiabilitat diagnòstica de fibrosi en malalts amb colangitis biliar primària (300).

Tot i l'elevada eficàcia d'aquest algorisme per detectar pacients amb fibrosi significativa i cirrosi (228,267,284) diversos estudis han apuntat que la seva capacitat diagnòstica en fibrosi hepàtica lleu o moderada és més reduïda (267,299). De fet una de les limitacions d'aquests tipus de biomarcadors és que no són totalment específics del fetge i els seus nivells poden estar elevats en presència de processos inflamatoris o altres patologies. A més a més, es poden veure influenciats per una disfunció de les cèl·lules endotelials, una excreció biliar alterada o per una disfunció renal (301).

#### **4.3.2.3.3. Aplicabilitat i combinació dels marcadors serològics**

La fàcil aplicació d'aquests marcadors permet una monitorització freqüent i longitudinal dels pacients. Els pacients amb progressió de la malaltia poden ser detectats utilitzant tant marcadors directes (300) com indirectes (302,303). Ngo et al.(302) varen analitzar en 1.074 pacients amb hepatitis crònica VHB la fiabilitat d'un valor normal del Fibrotest

per excloure el desenvolupament d'esdeveniments (descompensació, sagnat per varices, HCC, trasplantament hepàtic o mort de etiologia hepàtica) durant un seguiment de 4 anys. Aquests autors varen demostrar un VPN del 100% per excloure esdeveniments als 4 anys, superior a l'ALT o la càrrega viral. A més van identificar que fins el 22% dels portadors inactius podien presentar un valor elevat de Fibrotest orientant la possibilitat de l'existència de fibrosi hepàtica en aquest grup de pacients. Ghany et al.(303) varen avaluar en 1.050 pacients amb hepatopatia crònica VHC un model de regressió basat en la xifra de plaquetes, l'albumina, la bilirubina i el quocient AST/ALT per identificar pacients amb esdeveniments clínics (empitjorament de 2 o més punts en el Child-Pugh, descompensació, sagnat per varices o mort d'etiologia hepàtica). Els autors varen demostrar que la possibilitat acumulada d'esdeveniments als 3,5 anys era del 2% en pacients amb un percentil <50 i del 65% en pacients amb un percentil  $\geq 90$ . Mayo et al. (300) varen avaluar la utilitat d'ELF en 161 pacients amb colangitis biliar primària per identificar esdeveniments (descompensació, varices esofàgiques, sagnat per varices, necessitat de trasplantament o mort d'etiologia hepàtica) amb un seguiment mitjà de 7,3 anys. Els autors van trobar una probabilitat acumulada de tan sols el 8% en pacients amb valors baixos d'ELF i el 46% en pacients amb valors alts. Més recentment, Carrion et al, han demostrat la utilitat del 3-M-ALG (que a l'igual que l'ELF utilitza l'AH, el TIMP-1 i el PIIINP) en pacients amb recurrència de l'hepatitis C després del trasplantament. Els autors varen demostrar en una cohort de 133 pacients amb un seguiment mitjà de 4,8 anys que un valor del 3-M-ALG  $>2$  a l'any del trasplantament mostrava una probabilitat acumulada de descompensació del 61% (250).

La bona acceptació d'aquests marcadors per part dels pacients permet avaluar no solament la progressió de la malaltia, sinó també el canvi produït pels tractaments. Tant els marcadors directes (228) com els indirectes (304) han demostrat descensos de forma significativa en pacients amb resposta al tractament antiviral traduint una inhibició del procés de fibrosi i una milloria de la funció hepàtica.

Al llarg dels últims anys s'han dissenyat també diversos índexs que combinen ambdós tipus de marcadors serològics per tal de contrarestar les diferents limitacions que presenten cadascun d'ells i millorar així el rendiment diagnòstic global. Entre ells cal destacar el FibroMeter, que combina diferents marcadors directes i indirectes com són el recompte de plaquetes, la taxa de protrombina, la AST, la  $\alpha 2$ -macroglobulina, l'AH, la urea i l'edat. La bona capacitat diagnòstica i la seva aplicabilitat ha estat validada en diverses malalties hepàtiques cròniques com les degudes al VHC i el VHB, l'HA i l'EHNA.

Una característica important del FibroMeter és que no només s'usa com a eina diagnòstica sinó que també permet determinar de forma indirecta el percentatge de fibrosi en el fetge. Per tant, té dos objectius diagnòstics principals: estadificar la fibrosi hepàtica de forma no invasiva i quantificar-la (278).

Hepascore és un model que usa l'edat, el sexe, la bilirubina, la GGT i la  $\alpha$ 2-macroglobulina com a variables predictives (37). Cinc anys després de la seva definició, es va realitzar un estudi multicèntric on es van incloure 512 pacients amb VHC i es va avaluar aquest índex de forma automatitzada (305). Els resultats obtinguts van ésser molt positius, obtenint una AUROC de 0,81 i de 0,88 per identificar fibrosi significativa i cirrosi, respectivament.

Els resultats d'aquests índexs s'han d'interpretar amb precaució. Per una banda, la no especificitat d'òrgan dels marcadors directes implica que siguin influenciats per comorbilitats associades. És així com el FibroMeter i el Hepascore tenen falsos positius per hiperbilirubinèmia, com per exemple, en la síndrome de Gilbert, hemòlisi, colestasi, o per increment d' $\alpha$ 2-macroglobulina i haptoglobina. De manera similar, poden produir-se falsos resultats degut a l'activitat necroinflamatòria, en els índexs APRI i FIB-4 i per alteracions lipídiques o ús de medicaments, en l'índex Forns.

#### **4.3.2.4. Limitacions globals de les diferents estratègies no invasives**

Malgrat moltes d'aquestes estratègies han estat validades i fins i tot algunes s'apliquen a la pràctica clínica, el seu ús es limita majoritàriament a la detecció de fibrosi hepàtica moderada/avançada i cirrosi. Així doncs, la capacitat d'identificar de forma no invasiva a pacients en estadis fibròtics precoços i amb un procés fibrogènic actiu continua essent un repte a assolir (246,273).





## **HIPÒTESI**



Les malalties hepàtiques són molt prevalents a les consultes d'atenció primària i moltes d'elles estan infradiagnosticades en pacients aparentment sans. Habitualment es diagnostiquen en pacients als quals se'ls practica una ecografia abdominal per qualsevol motiu, o bé mitjançant una analítica després del curs d'un examen de salut en pacients asimptomàtics que presenten un augment discret dels enzims hepàtics. La inflamació crònica del fetge, sigui quina sigui la seva causa, és inicialment asimptomàtica en la immensa majoria dels casos, la qual cosa determina que el diagnòstic de la malaltia no es faci fins a fases molt avançades de la seva història natural quan els pacients ja tenen una cirrosi, situació en la qual la malaltia és irreversible i el tractament del factor etiològic difícil o impossible.

S'han desenvolupat diversos mètodes no invasius que, de manera directa o indirecta, han mostrat que poden detectar la fibrosi hepàtica en pacients amb hepatopaties cròniques atesos al nivell especialitzat. La implementació d'aquests mètodes a les unitats d'atenció primària fent-los accessibles a la població general podria ser l'estratègia ideal per identificar els pacients en fases inicials de la inflamació crònica del fetge, això permetria incidir de manera efectiva en la seva història natural i aturar o retardar la seva evolució.



## **OBJECTIUS**



La present tesi és una recopilació de 6 subestudis en la línia de demostrar les possibilitats d'identificar les malalties hepàtiques cròniques en fases precoces de la seva evolució, des de l'Atenció Primària de Salut, i utilitzant eines diagnòstiques no invasives.

Subestudi 1. Malaltia hepàtica en la població general.

Objectius:

- Conèixer la prevalença de malalties hepàtiques asimptomàtiques en la població general.
- Conèixer la utilitat diagnòstica dels mètodes no invasius de fibrosi hepàtica (elastogràfics i serològics) per detectar aquestes malalties.
- Determinar els factors clínics i analítics associats a la presència de fibrosi hepàtica.
- Estudiar la correlació entre els diferents mètodes no invasius, així com, amb el resultat de la histologia hepàtica.

Subestudi 2. Disseny i validació d'un algorisme diagnòstic de fibrosi hepàtica per l'Atenció Primària.

Objectius:

- Construir un algorisme diagnòstic de fibrosi hepàtica d'aplicació a l'Atenció Primària.
- Validació de l'algorisme per ser utilitzat en la pràctica clínica.

Subestudi 3. Diagnòstic serològic de fetge gras no alcohòlic en la població general.

Objectius:

- Estudiar els diferents marcadors serològics disponibles per al diagnòstic del fetge gras no alcohòlic.
- Comparar els diferents marcadors serològics per al diagnòstic del fetge gras no alcohòlic.
- Comparar els marcadors serològics de fetge gras amb la fibrosi hepàtica, mitjançant els marcadors serològics de fibrosi, l'elastografia hepàtica i el resultat histològic.



#### Subestudi 4. Diagnòstic de fibrosi hepàtica en la població general.

##### Objectius:

- Estudiar els diferents marcadors serològics disponibles per al diagnòstic de fibrosi hepàtica.
- Determinar la fiabilitat diagnòstica de cadascun d'ells, així com la seva comparació.
- Comparar els marcadors serològics de fibrosi hepàtica entre els marcadors serològics de diagnòstic de fetge gras, l'elastografia hepàtica i el resultat histològic.
- Estudiar els marcadors serològics de fetge gras, fibrosi i l'elastografia hepàtica amb subjectes amb un o més factors de risc de fibrosi hepàtica.
- Capacitat diagnòstica del marcador Enhanced Liver Fibrosis per al diagnòstic de fibrosi hepàtica i la seva comparació amb els marcadors de diagnòstic de fetge gras, fibrosi hepàtica, elastografia hepàtica i la histologia hepàtica.

#### Subestudi 5. La síndrome metabòlica com a factor de risc de fibrosi hepàtica en subjectes amb consum d'alcohol.

##### Objectius:

- Conèixer l'efecte de la síndrome metabòlica en subjectes amb consum d'alcohol en relació al risc de desenvolupar fibrosi hepàtica.
- Estudiar i comparar els marcadors serològics de fibrosi, l'elastografia hepàtica i el resultat histològics en subjectes amb consum d'alcohol.

#### Subestudi 6. Anàlisi de cost-efectivitat de l'elastografia hepàtica en la detecció precoç de fibrosi hepàtica a l'Atenció Primària.

##### Objectius:

- Conèixer la utilitat de dos estratègies diferents per la detecció precoç de la fibrosi hepàtica.

## **PACIENTS I MÈTODES**



## **1. MALALTIA HEPÀTICA EN LA POBLACIÓ GENERAL**

### **1.1. Disseny de l'estudi.**

Estudi transversal, descriptiu, multicèntric i de base poblacional.

### **1.2. Població d'estudi.**

Es van incloure subjectes adults d'entre 18 i 75 anys adscrits a 16 equips d'Atenció Primària de les comarques del Barcelonès Nord i Maresme, de la província de Barcelona que donen cobertura a 470.000 habitants.

#### **1.2.1. Criteris d'inclusió.**

Població d'ambdós gèneres procedents d'aquests centres, que volguessin participar en l'estudi i donessin el seu consentiment informat per escrit.

#### **1.2.2. Criteris d'exclusió.**

- Malaltia hepàtica crònica coneguda.
- Malalties greus que requerissin controls freqüents o haguessin tingut ingressos hospitalaris repetits.
- Deteriorament cognitiu, demència o malaltia mental que impossibiliti la realització del qüestionari i de les proves diagnòstiques.
- Subjectes institucionalitzats.
- Subjectes que no van donar el seu consentiment per participar en l'estudi.

### **1.3. Selecció de la mostra.**

Els subjectes van ser seleccionats aleatòriament de la base de dades de el Sistema d'Informació d'Atenció Primària (SIAP). El SIAP és la base de dades poblacional que sustenta la targeta sanitària individual i que equival al cens poblacional a Catalunya, sent més exhaustiu i actualitzat que aquest. Recull totes les dades dels subjectes adscrits a un centre d'Atenció Primària de la zona (la immensa majoria de la població), s'hagin visitat al centre alguna vegada o no.

Un cop elaborats els llistats dels subjectes seleccionats aleatòriament per participar en l'estudi pel sistema informàtic, es va procedir a revisar la història clínica exhaustivament per identificar possibles criteris d'exclusió no detectats amb anterioritat. Després de

comprovar que el participant no presentava cap criteri per ser exclòs de l'estudi, una persona especialment formada i entrenada i amb àmplia experiència en el reclutament de participants per a estudis poblacionals, va contactar amb ell per telèfon per convidar-lo a participar. Aquestes trucades telefòniques van ser realitzades per la mateixa persona, amb un màxim de 6 trucades per subjecte en diferents hores i dies, en cas de no poder localitzar el candidat a la primera trucada. En el mateix moment de la trucada se'ls explicava en què consistiria l'estudi.

Un cop el subjecte acceptava la invitació a participar se li programava la visita presencial per a l'entrevista i valoració inicial en unes agendes creades específicament per a la realització de l'estudi a cada centre d'Atenció Primària. De la mateixa manera, si rebutjava participar es registrava el motiu pel qual no volia participar a l'estudi. D'aquesta manera es van poder detectar alguns candidats que presentaven criteris d'exclusió i que no estaven registrats en la història clínica informatitzada.

#### **1.4. Variables.**

Es va realitzar la primera visita per personal d'infermeria específicament entrenat per a la recollida de dades de l'estudi. En aquesta, se li explicava a cada participant individualment i de forma detallada en què consistia l'estudi i se li demanava signar el consentiment informat per escrit. A continuació, van ser sotmesos a una anamnesi i exploració física completa i se'ls realitzava l'EH. A l'acabar la visita se'ls lliurava la petició per realitzar l'analítica tant de sang com d'orina.

De tot aquest procés es van obtenir les variables que es detallen a continuació.

##### **1.4.1. Variables sociodemogràfiques.**

En les variables demogràfiques es van recollir les dades corresponents a:

**1.4.1.1. Edat:** en anys

**1.4.1.2. Gènere:** masculí o femení

**1.4.1.3. Nivell d'estudis:** sense estudis, estudis primaris, secundaris, universitaris.

**1.4.1.4. Ètnia:** caucàsica, asiàtica, subsahariana, llatina.

#### **1.4.2. Anamnesi i dades de la història clínica.**

Una infermera especialment entrenada realitzava l'anamnesi per tal d'obtenir les dades clíniques i epidemiològiques rellevants. En cas de no obtenir la informació per part del pacient, es revisava la història clínica intentant recuperar la màxima informació possible a partir dels registres clínics. Les dades van ser obtingudes de la història clínica informatitzada de l'Estació Clínica d'Atenció Primària (ECAP), on es troba la informació registrada pels metges i infermeres de l'atenció primària de salut i on consten els antecedents personals, així com els hàbits tòxics (com el consum d'alcohol, tabac), el consum de fàrmacs i la presència de comorbiditats.

##### **1.4.2.1. Hàbits tòxics.**

###### **1.4.2.1.1. Consum d'alcohol.**

El consum d'alcohol es va enregistrar en unitats de beguda estàndard (UBE). Una UBE equival a 10 grams d'alcohol. Es va descriure el tipus de beguda i el patró de consum. Es va diferenciar el consum durant la setmana (dilluns a dijous) i els caps de setmana (divendres a diumenge). En els consumidors es va registrar també el temps que portaven consumint en nombre d'anys. Es va considerar com abstemi a aquell subjecte que no ingeria alcohol. Es va considerar com a bevedors de risc a aquells subjectes amb un consum d'alcohol  $\geq 21$  UBE i  $\geq 14$  UBE a la setmana en homes i dones, respectivament.

###### **1.4.2.1.2. Consum de tabac.**

El consum de tabac es va diferenciar entre: no fumador com aquell individu que no havia fumat mai, ex-fumador aquell que feia més d'un any que no fumava i fumador actual al què consumia més d'un cigar/cigarret o pipa al dia.

##### **1.4.2.2. Antecedents patològics personals.**

###### **1.4.2.2.1. Presència de comorbiditats.**

Es va determinar segons el registre de la història clínica en l'ECAP, la presència d'HTA, DM2, hipercolesterolèmia, hipertrigliceridèmia.

## **1.5. Exploració física.**

### **1.5.1. Dades antropomètriques.**

Es van mesurar i registrar, el pes, la talla, l'obesitat abdominal i l'IMC.

**1.5.1.1. Pes:** es va determinar en quilograms (kg).

**1.5.1.2. Talla:** en centímetres (cm).

**1.5.1.3. Obesitat abdominal:** es va realitzar per mitjà de la determinació de la circumferència de cintura i maluc, utilitzant una cinta mètrica (es considera circumferència de cintura el perímetre de la zona abdominal intermèdia entre l'últim arc costal i la cresta ilíaca mesurat en pla horitzontal i circumferència del maluc a l'obtinguda en el pla de màxim relleu dels músculs glutis).

**1.5.1.4. Índex de massa corporal:** es va calcular segons la fórmula de pes en kg dividit entre l'alçada mesurada en metres al quadrat ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

### **1.5.2. Determinació de la pressió arterial**

Es va determinar amb el subjecte en sedestació, amb un tensiòmetre automàtic homologat (OMRON M6 Comfort). Es van realitzar tres determinacions, separades entre si per dos minuts i es va adoptar com pressió arterial final la mitjana de les dues últimes preses, rebutjant-se la primera.

## **1.6. Determinació analítica**

Es va realitzar una determinació analítica en sang després de 12 hores de dejuni en el mateix centre de salut al què estava adscrit el subjecte. Les mostres van ser remeses a laboratori de referència de cada centre (procediment habitual assistencial). La determinació analítica incloïa:

**1.6.1. Hemograma complet.**

**1.6.2. Perfil glucèmic:** glucosa i hemoglobina glicosilada (HbA1c)

**1.6.3. Perfil lipídic:** colesterol total, lipoproteïnes de baixa i alta densitat del colesterol (HDL, LDL) i triglicèrids.

**1.6.4. Perfil hepàtic:** AST, ALT, bilirubina total, GGT i fosfatasa alcalina.

**1.6.5. Metabolisme del ferro:** siderèmia, saturació de transferrina i ferritina.

**1.6.6. Proteïnes totals i albúmina.**

**1.6.7. Marcadors virals:** antigen de superfície de l'hepatitis B (HBsAg) i anticossos enfront el virus de l'hepatitis C (anti-VHC).

**1.6.8. Perfil renal:** creatinina sèrica, índex albúmina/creatinina i filtrat glomerular.

**1.6.9. Perfil tiroïdal:** tirotropina (TSH) i tiroxina (T4).

## **1.7. Diagnòstic de la síndrome metabòlica.**

Es va estudiar la presència de la síndrome metabòlica (SM) segons els criteris americans de la NCEP-ATPIII (Adult Treatment Panel III del National Cholesterol Education Program) (306) que inclou els següents paràmetres:

- Perímetre abdominal  $\geq 102$  cm en homes i  $\geq 88$  cm en dones.
- Xifres de tensió arterial sistòlica  $\geq 130$  mmHg i/o tensió arterial diastòlica  $\geq 85$  mmHg o tractament previ de la hipertensió.
- Glucèmia basal  $\geq 100$  mg/dl o tractament de la diabetis.
- cHDL  $< 50$  mg/dl en dones o  $< 40$  mg/dl en homes o tractament previ.
- Triglicèrids  $\geq 150$  mg/dl o tractament previ.

Aquells pacients que van complir 3 o més d'aquests criteris van ser diagnosticats de SM.

## **1.8. Diagnòstic de Fibrosi Hepàtica.**

### **1.8.1. Elastografia hepàtica.**

Es va realitzar una EH (Fibroscan®, Echosens, Paris, França) a tots els subjectes. El model de Fibroscan utilitzat va ser el 402, i la sonda que es va aplicar va ser la sonda M. La tècnica la van realitzar tres infermeres entrenades que prèviament a l'estudi van rebre formació en el Servei d'Hepatologia de l'Hospital Clínic de Barcelona durant 3 mesos, garantint d'aquesta manera un mínim de 300 exploracions supervisades; un cop finalitzat el període formatiu les infermeres van ser avaluades per la companyia Echosens, que va emetre un informe favorable i l'acreditació per poder realitzar l'estudi amb exploracions de qualitat tècnica.



El Fibroscan està format per una sonda emissora i receptora i un ordinador que processa la informació i genera una imatge de l'ona elàstica i el valor de la rigidesa hepàtica en kPa, tal com ja es s'ha esmentat prèviament. Per realitzar l'exploració, l'individu havia d'estar un mínim de quatre hores de dejuni. Amb el subjecte en decúbit supí i el braç dret en màxima abducció, es va procedir a col·locar la sonda sobre la silueta hepàtica, entre les costelles, en la línia mitjana axil·lar dreta i perpendicular al pla de la pell a dos espais intercostals per sota de la vora superior hepàtica. Es van obtenir 10 determinacions vàlides en cada un dels subjectes. Van ser considerades com a vàlides aquelles exploracions que assolissin 10 lectures vàlides amb un IQR <30 i un índex d'èxit >60%.

Es considera un valor normal de l'EH al voltant de 5 kPa. Els punts de tall predefinits utilitzats van ser de  $\geq 6,8$  kPa,  $\geq 8,0$  kPa i  $\geq 9,0$  kPa. Es van utilitzar aquests punts de tall considerant la informació existent a la bibliografia en el moment del disseny de l'estudi. Així, el punt de tall  $\geq 6,8$  kPa diagnosticava correctament la fibrosi significativa en els pacients amb FGNA (307,308). El punt de tall de  $\geq 8,0$  kPa és el valor que es va atribuir a la fibrosi significativa en diversos estudis on majoritàriament els pacients tenien un FGNA (126). El punt de tall de  $\geq 9,0$  kPa va ser proposat per la presència de fibrosi significativa, especialment en pacients amb FGNA, en un ampli estudi dut a terme a Hong Kong (128).

### **1.8.2. Mètodes serològics per a la determinació de fibrosi.**

D'entre els mètodes serològics indirectes o no invasius per a la detecció de fibrosi, es va calcular el NFS i el FIB-4. Aquests marcadors inclouen unes variables tant clíniques com analítiques fàcils d'obtenir en la pràctica clínica habitual.

#### **1.8.2.1. NAFLD Fibrosi Score (NFS).**

Està constituït per les següents variables: edat, IMC, diabetis, quocient AST/ALT, plaquetes, albúmina i respon a la següent fórmula (276):

$$\text{NFS} = (-1.675 + 0.037 \times \text{edat (anys)} + 0.094 \times \text{IMC (kg/m}^2\text{)} + 1.13 \times \text{IFG/diabetis (si=1, no=0)} + 0.99 \times \text{AST/ALT quocient} - 0.013 \times \text{plaquetes (x10}^9\text{/L)} - 0.66 \times \text{albúmina [g/dl]})$$

Segons el seu resultat tenim:

- NFS <-1,455 exclou la presència de fibrosi significativa (F0-F2).

- NFS  $\geq -1,455$  i  $\leq 0,676$  indeterminat.
- NFS  $>0,676$  identifica la presència de fibrosi significativa (F3-F4).

#### **1.8.2.2. FIB-4.**

Està constituït per l'edat, AST, ALT, plaquetes i respon a la següent fórmula (40).

$FIB-4 = \text{edat (anys)} \times \text{AST (U/l)} / (\text{plaquetes} \times 10^9/\text{l}) \times \text{ALT (U/l)}^{1/2}$ .

Segons el resultat:

- FIB-4  $<1,30$  exclou la presència de fibrosi significativa
- FIB-4 entre 1,30 i 2,67 indeterminat
- FIB-4  $>2,67$  identifica la presència de fibrosi significativa.

#### **1.8.3. Biòpsia hepàtica.**

Els subjectes amb valors elastogràfics  $\geq 6,8$  kPa i/o que presentaven un valor d'ALT  $>80$  U/L, van ser derivats als hospitals de referència de tercer nivell. En aquest cas al Servei de Digestiu de l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona i el Servei d'Hepatologia de l'Hospital Clínic de Barcelona per confirmar el diagnòstic segons els criteris preestablerts en aquests centres. Entre els diferents mètodes diagnòstics es va realitzar la biòpsia hepàtica, per determinar si patien alguna malaltia hepàtica i conèixer la fase evolutiva en què es trobava i correlacionar el resultat histològic amb l'EH.

La biòpsia hepàtica es va realitzar per via percutània, sota control ecogràfic, utilitzant una agulla buida percutània (Truc-Cut) sota anestèsia local i seguint els protocols de cadascun dels hospitals de referència.

L'estudi histològic va ser realitzat per dos patòlegs (AD i NO), un de cada hospital amb una àmplia experiència en l'estudi de les malalties hepàtiques, i sense coneixement dels resultats clínics, analítics, i elastogràfics dels pacients. Els criteris que van utilitzar es detallen a continuació.

Els criteris que es van utilitzar per diagnosticar la fibrosi van ser els de l'escala METAVIR, que determina el grau de fibrosi entre F0-F4; F0 absència de fibrosi, F1 fibrosi portal sense septes, F2 fibrosi portal amb alguns septes, F3 nombrosos septes sense cirrosi i F4 cirrosi.

Per al diagnòstic de FGNA i EHNA es va utilitzar la classificació del NAS Score que determina el grau d'activitat inflamatòria, segons la presència d'esteatosi amb una puntuació de 0 a 3, inflamació amb una puntuació de 0 a 3, inflor i edema (balonització) amb una puntuació de 0 a 2 de manera que la màxima puntuació pot ser de 8. Així, una puntuació  $\geq 5$  confirma la presència d'EHNA i una puntuació  $\leq 3$  exclou la presència d'EHNA.

## **1.9. Diagnòstic de FGNA.**

Per al diagnòstic del FGNA es van utilitzar el marcador serològic FLI i l'ecografia abdominal.

### **1.9.1. Fatty Liver Index.**

FLI (287) és un marcador serològic no invasiu que està constituït per les següents variables: IMC, perímetre abdominal (WC), GGT i els triglicèrids (TAG) i respon a la fórmula:

$$FLI = \frac{(0.0953 * \log_e (TAG) + 0.139 * IMC + 0.0718 * \log_e (GGT) + 0.053 * WC - 15.745)}{(1 + 0.0953 * \log_e (TAG) + 0.139 * IMC + 0.0718 * \log_e (GGT) + 0.053 * WC - 15.745)} * 100$$

De manera que, un FLI  $\geq 60$  diagnostica el FGNA, un FLI  $<30$  exclouria la presència de FGNA i un FLI entre 30-60 és un valor indeterminat.

### **1.9.2. Ecografia abdominal.**

Es va realitzar l'ecografia abdominal en aquells subjectes que presentaven augment moderat de les proves de funció hepàtica; en aquells que tot i complir criteris per realitzar la biòpsia hepàtica, segons el protocol d'estudi, van manifestar la seva decisió de no realitzar-la; i també en tots els pacients que van ser sotmesos a la biòpsia hepàtica.

En el present estudi i a causa de l'extensió de la nostra àrea d'influència, les ecografies es van realitzar en els dos centres de radiodiagnòstic de referència de la nostra zona (Serveis de Diagnòstic per la Imatge de Mataró i de Santa Coloma de Gramenet). L'ecògraf utilitzat va ser idèntic en cada un dels centres de referència (Ecògraf Mylab 70

XVG ESAOTE S.p.A. Gènova-Itàlia) equipats amb un transductor lineal multifreqüència (7,5-13 MHz) d'alta resolució.

En total van ser 4 radiòlegs que van participar i entre ells van consensuar els criteris diagnòstics d'esteatosi. Cap d'ells tenia coneixement dels resultats tant clínics com analítics dels subjectes.

En cada cas es van descriure els següents paràmetres: mida, ecoestructura, contorn i ecogenicitat hepàtica, diàmetre portal, alteracions de la vesícula biliar, mida i ecoestructura de la melsa. El diagnòstic d'esteatosi es va establir segons els criteris estàndard acceptats per l'American Gastroenterology Association (309): augment d'ecogenicitat hepàtica prenent com a referència l'ecogenicitat renal, presència d'atenuació i falta de diferenciació del reforç periportal i de la paret vesicular a causa de la gran hiperecogenicitat del parènquima. Es va estandarditzar el grau d'afectació mitjançant una escala semiquantitativa del grau de refringència hepàtica.

## **1.10. Pla d'anàlisi.**

### **1.10.1. Mida de la mostra.**

La mida mostral inicial estimada va ser de 3.447 subjectes esperant que un 10% tinguessin l'EH alterada ( $\geq 6,8$  kPa), amb una precisió del 1% i un interval de confiança del 95%.

### **1.10.2. Control de qualitat.**

Es van recollir les dades en un registre específicament elaborat per aquest estudi. El quadern de recollida de dades es va dissenyar mitjançant el sistema TeleForm com a qüestionari de lectura òptica per tal de minimitzar els errors en la gravació de les dades. TeleForm és un sistema que permet el disseny dels qüestionaris per realitzar-ne la lectura òptica i digitalització dels registres de manera semiautomàtica supervisada per un operador que detecta i corregeix possibles errors de lectura.

Posteriorment les dades van ser verificades i transferides a un fitxer Excel per tal de ser depurades, detectant valors estranys o impossibles, relacions inconsistents entre variables o valors perduts que es poguessin recuperar, per finalment deixar el fitxer preparat per analitzar les dades estadísticament.

### 1.10.3. Anàlisi estadística.

Les variables contínues van ser descrites mitjançant mitjana i desviació estàndard, mentre que les diferències de les mitjanes en els diferents subgrups segons els punts de tall elastogràfics van ser analitzades utilitzant t de Student. En el cas que les variables no fossin raonablement normals (mitjançant inspecció visual) es van descriure mitjançant mitjana i rang interquartílic, comparant, en aquest cas, els subgrups segons punt de tall elastogràfic mitjançant el test de Mann-Whitney.

Les variables categòriques van ser descrites mitjançant freqüència i percentatge, i les diferències entre les proporcions van ser analitzades utilitzant la prova de chi quadrat, o el test exacte de Fisher si la freqüència esperada en alguna cel·la era inferior a 5.

Per identificar els factors de risc associats amb la presència de fibrosi (Fibroscan  $\geq 6,8$  kPa o un altre punt de tall alternativament) es va utilitzar l'anàlisi multivariant de regressió logística, sent la presència de fibrosi la variable dependent i la resta variables explicatives mútuament ajustades entre si. La selecció de les variables explicatives es va basar en:

- 1.- La plausibilitat biològica i la informació existent en la literatura que aquesta variable es relacionés amb la fibrosi.
- 2.- La relació entre la variable explicativa i la presència de fibrosi en un model bivariant. Aquelles variables amb  $p > 0,1$  en l'anàlisi bivariada ja no van ser provades, excepte que el punt anterior aconsellés comprovar que no hi havia relació tampoc en un model multivariant.
- 3.- En el cas de diverses variables explicatives molt correlacionades es va escollir la més utilitzada en anteriors estudis o la de més fàcil interpretació. Aquestes variables són relativament intercanviables, encara que finalment només una s'ha inclòs en el model. La inclusió de variables molt correlacionades entre si produiria multicolinealitat.

En la regressió logística tots els resultats es presenten com odds ratio (OR), el seu interval de confiança al 95% (IC95%) i el p valor per al test OR=1.

Es va calcular la sensibilitat, especificitat i valors predictiu positiu i negatiu per als diversos punts de tall de l'EH vs la fibrosi detectada mitjançant biòpsia (prova patró). Anàlogament es va fer això mateix per comparar els diversos marcadors serològics

prenent aquest cop la fibrosi segons l'EH com a prova patró. Es van comparar les diverses corbes AUROC obtingudes i la seva àrea sota la corba, mitjançant el mètode de DeLong.

Gràficament s'han representat variables contínues com els valors de EH mitjançant funcions de densitat suavitzades per nucli amb nucli de Epanechnikov, i s'han comparat entre grups mitjançant diagrames de caixa. Variables categòriques o discretes s'han representat mitjançant diagrames de barres o de sectors. Diferents ORs entre grups s'han graficat mitjançant forest plots.

Totes les anàlisis s'han fet amb significació del 5% i bilaterals. S'ha utilitzat el paquet estadístic Stata 15 per a realitzar les anàlisis.



## **2. DISSENY I VALIDACIÓ D'UN ALGORISME DIAGNÒSTIC DE FIBROSI HEPÀTICA A LA POBLACIÓ GENERAL.**

### **2.1. Disseny algorisme**

Una de les preocupacions és la de disposar d'eines per fer el diagnòstic precoç de les malalties hepàtiques cròniques i la presència de fibrosi hepàtica, des de l'Atenció Primària, on els seus professionals són els primers de detectar alteracions de les proves de funció hepàtica o bé alteracions de les proves d'imatge, en especial l'ecografia abdominal. Les malalties HC són un problema de salut global, especialment a causa de l'alta prevalença de malaltia per FGNA relacionada amb l'obesitat i/o DM2. En aquest sentit, el paper dels metges de família és molt important ja que són els que diagnostiquen i controlen els pacients amb els diferents components de la SM. En l'actualitat, la majoria de pacients són diagnosticats en fases molt avançades, amb cirrosi descompensada o HCC, i no s'ha implementat cap estratègia sanitària de detecció precoç. La realització d'un cribratge poblacional de fibrosi hepàtica permetria un diagnòstic precoç de les malalties cròniques de fetge i això podria tenir un impacte molt positiu en l'evolució dels pacients.

Per tot això, es va desenvolupar un algorisme que pogués ser útil per al cribratge de la fibrosi hepàtica en la població general utilitzant l'EH com a mètode de selecció. El punt de tall que es va utilitzar va ser de 9,2 kPa perquè es el que va obtenir una major capacitat predictiva pel diagnòstic de fibrosi hepàtica significativa, amb un VPN molt elevat i un VPP raonablement alt.

En primer lloc es va analitzar la prevalença de fibrosi hepàtica significativa segons la presència o absència de factors de risc de fibrosi hepàtica (obesitat, DM2, hiperlipidèmia, HTA, SM o consum de risc d'alcohol). En general, El 57,9% dels subjectes tenien 1 o més factors de risc. De manera destacada, la prevalença d'EH de 9,2 kPa en pacients sense factors de risc va ser només del 0,4%, en comparació amb el 5,0% en pacients amb 1 o més factors de risc ( $p < 0,001$ ). Després es va analitzar quines de les variables bioquímiques i marcadors serològics que es van emprar (NFS, FIB-4, FLI i transaminases) tenien una major capacitat predictiva per descartar una fibrosi hepàtica significativa en els subjectes amb factors de risc.

En base això, es va voler dissenyar un algorisme de 3 passos que fos aplicable al diagnòstic de fibrosi hepàtica en la població general i que es pogués aplicar a les consultes d'atenció primària, per tal de decidir quins pacients s'haurien de derivar al



especialista per confirmar el diagnòstic de probable hepatopatia i sotmetre's a tractament.

## **2.2. Validació algorisme**

Un cop obtingut l'algorisme amb totes les dades de l'estudi de la present tesi, es va voler fer la validació amb la finalitat de corroborar els resultats obtinguts.

Per dur a terme la validació, es va fer un estudi transversal, multicèntric i de base poblacional de validació d'un algorisme de cribratge de malaltia HC en la població, basat en la determinació del grau de fibrosi hepàtica mitjançant EH en subjectes amb factors de risc de malaltia HC (factors de risc metabòlics i/o consum de risc d'alcohol), i que a més presenten un elevat contingut de greix al fetge, estimat mitjançant l'índex FLI identificats en Atenció Primària.

L'estudi es va dur a terme en una població de persones majors de 40 anys amb factors de risc de malaltia hepàtica (metabòlics o consum de risc d'alcohol) procedents dels mateixos centres d'Atenció Primària de l'estudi original de la zona de Barcelonès Nord i Maresme (Barcelona) que donen cobertura a 470.000 habitants. Els subjectes van ser seleccionats aleatòriament a partir de la base de dades del Sistema d'Informació d'Atenció Primària (SIAP) que és la base de dades poblacional que sustenta la targeta sanitària individual i que equival a el cens poblacional a Catalunya, sent fins i tot més exhaustiu i actualitzat que aquest. Recull tots els subjectes adscrits a un centre d'Atenció Primària de la zona (la immensa majoria de la població), s'hagin visitat alguna vegada o no.

Els criteris d'inclusió i exclusió van ser els mateixos, excepte l'edat que va ser igual o superior als 40 anys. Aquest criteri es va establir en base a la baixa prevalença de subjectes entre 18 i 40 anys que presentaven alteracions elastogràfiques que indiquessin la presència de fibrosi hepàtica.

El procediment va ser el mateix, de manera que, van ser visitats pel personal d'infermeria específicament entrenat per a la recollida de dades de l'estudi. En aquesta, se li explicava a cada participant individualment i de forma detallada en què consistia l'estudi i se li demanava signar el consentiment informat per escrit. A continuació, van ser sotmesos a una anamnesi i exploració física completa i se'ls realitzava l'EH. En acabar la visita se'ls lliurava la petició per realitzar l'anàlítica tant de sang com d'orina.

### **2.2.1. Càlcul mostral**

L'objectiu principal de l'estudi és comprovar que les prevalences de EH  $\geq 9,2$  kPa en subjectes amb un o més factors de risc de malaltia hepàtica són aproximadament 8,7% en aquells amb FLI  $\geq 60$  i 0,3% en aquells amb FLI  $< 60$ . Per obtenir aquestes prevalences amb una precisió de 3% per FLI  $\geq 60$  i 1% per FLI  $< 60$  es necessiten 753 subjectes amb FLI  $\geq 60$  i 411 amb FLI  $< 60$ . Tenint en compte que assumim que un 61,5% dels subjectes amb un o més factors de risc de malaltia hepàtica tindran FLI  $\geq 60$  això obliga a reclutar 3304 subjectes.

### **2.2.2. Anàlisi estadística**

L'anàlisi emprat en aquest apartat fou merament descriptiu, calculant freqüències, percentatges, mitjanes, sensibilitat, especificitat i valors predictius positius i negatius.

Totes les variables sociodemogràfiques, els hàbits tòxics, la presència de comorbiditats, l'exploració física, les determinacions analítiques, el diagnòstic de la SM, l'EH, el diagnòstic de fetge gras i els marcadors serològics van seguir els mateixos criteris de l'estudi previ.

Tots els càlculs s'han realitzat a nivell bilateral, amb confiança del 95% i potència del 80%.

### **2.3. Comparació amb altres algorismes**

Ja s'ha comentat l'interès que hi ha en diversos grups a nivell internacional el poder fer la detecció precoç de la fibrosi, en general s'opta per detectar la fibrosi mitjançant els marcadors serològics NFS i més específicament el FIB-4 en els pacients amb sospita de FGNA i un cop descartades altres malalties HC. Per tant es va estudiar amb els resultats del present algorisme i, un cop validat, comparar-lo amb l'algorisme més àmpliament acceptat per la majoria de grups (115,310).



### 3. DIAGNÒSTIC SEROLÒGIC DE FETGE GRAS EN LA POBLACIÓ GENERAL

En el present estudi el diagnòstic de fetge gras no alcohòlic es va fer mitjançant el marcador serològic FLI. Aquest marcador és el que més s'utilitza, especialment a nivell poblacional. Tanmateix, hi ha altres marcadors que també s'han utilitzat per fer el diagnòstic de FGNA, entre ells l'*hepatic steatosis index* (HSI) i el *lipid accumulation product* (LAP). Ni ha d'altres, però degut a la falta d'algunes variables en l'actual tesi no s'han pogut determinar.

#### 3.1. Marcadors serològics diagnòstics de FGNA.

Es vol estudiar la correlació entre ells i veure quin discrimina millor el diagnòstic de FGNA. També es vol correlacionar-los amb el resultat de l'ecografia abdominal. Per al diagnòstic del FGNA s'han utilitzat els següents marcadors serològics:

##### 3.1.1. *Fatty Liver Index*.

FLI (287) és un marcador serològic no invasiu que està validat per realitzar el diagnòstic de FGNA. Aquest índex està constituït per variables clíniques i analítiques fàcils d'obtenir a la pràctica habitual, com ara, l'IMC, perímetre abdominal, la GGT i els triglicèrids i respon a la fórmula que s'ha mostrat anteriorment. De manera que, segons el seu resultat, un  $FLI < 30$  descarta la presència de FGNA, un valor entre 30-60 és un valor indeterminat i un valor  $\geq 60$  pràcticament és diagnòstic de FGNA.

##### 3.1.2. *Hepatic Steatosis Index*.

HSI (311) està constituït pel quocient ALT/AST, l'IMC, sexe i DM2 i respon a la fórmula:

$8 \cdot ALAT/ASAT + IMC$  [+2 si dona] [+2 si DM]

- HSI  $< 36$  exclouria la presència de FGNA.
- HSI  $\geq 36$  indica presència de FGNA.

##### 3.1.3. *Lipid Accumulation Product*.

LAP (312) està constituït pel perímetre abdominal, triglicèrids i sexe i respon a la fórmula:

$(Cintura - 65) \cdot TRIG \cdot 0.01129$  [Homes] /  $(Cintura - 58) \cdot TRIG \cdot 0.01129$  [Dones]

- $\ln(LAP) < 4.0/4.4$  (homes/dones) exclouria la presència de FGNA.

- In (LAP) >4.0/4.4(homes/dones) diagnostica la presència de FGNA.

#### **3.1.4. Transaminases**

Qualsevol alteració individual dels nivells de les transaminases o la seva combinació ALAT>40 o ASAT>40 o GGT>40.

#### **3.2. Comparació dels diferents marcadors serològics de FGNA amb la fibrosi hepàtica.**

Per aquesta anàlisi es van voler comparar el resultats dels diferents marcadors serològics estudiats a més del valor de les transaminases amb el resultat de l'EH de manera continua i amb valors de l'EH de 8,0 kPa i 9,0 kPa.

També es va estudiar la capacitat diagnòstica dels diferents marcadors amb el resultat histològic dels pacients que es van biopsiar.

#### **3.3. Anàlisi estadística**

Els diferents marcadors de FGNA es van correlacionar entre si i amb el valor de l'EH mitjançant coeficients de correlació de Pearson. Es van comparar les diferents mitjanes dels marcadors vs valors d'EH elevats (usant els punts de tall de 8 kPa o de 9,2 kPa) mitjançant test de t d'Student. En el cas d'usar-se medianes per descriure les variables contínues (perquè la distribució s'allunya de la normalitat) s'ha usat el test de Mann-Whitney per comparar aquestes medianes. Quan els marcadors estaven categoritzats (per exemple FLI≥60) es va usar el test de chi-quadrat per comparar-ho amb una EH elevada. La capacitat diagnòstica de cada marcador vs l'EH s'avaluà mitjançant corbes ROC i la seva àrea sota la corba, comparant aquestes àrees amb el test de DeLong, DeLong i Clarke-Pearson.

## **4. DIAGNÒSTIC DE FIBROSI HEPÀTICA EN LA POBLACIÓ GENERAL**

Estudiar la fiabilitat diagnòstica dels marcadors serològics indirectes i comparar-los entre si. Estudiar el marcador serològic directe ELF analitzar la seva fiabilitat i comparar-lo amb els marcadors serològics indirectes. Comparar el resultat dels diferents marcadors serològics directes i indirectes amb l'elastografia hepàtica i el resultat histològic dels pacients que es van biopsiar.

### **4.1. Marcadors serològics diagnòstics de fibrosi.**

#### **4.1.1. Mètodes serològics indirectes**

D'entre els mètodes serològics indirectes o no invasius per a la detecció de fibrosi, es va calcular el NFS, el FIB-4, APRI, índex Forns, eLIFT, BARD score.

##### **4.1.1.1. Índex NAFLD fibrosi score.**

El NFS ja s'ha descrit amb anterioritat.

##### **4.1.1.2. Índex FIB-4.**

El FIB-4 ja s'ha descrit amb anterioritat.

##### **4.1.1.3. Índex APRI.**

Aquest índex inclou el quocient AST/plaquetes, i es calcula segons la següent fórmula (39):

$APRI = [(AST/LSN)/plaquetes (109/l)] \times 100$ . LSN: Límit superior de la normalitat (35 UI/L).

Segons el resultat.

- APRI <0,5 exclou la presència de fibrosi significativa
- APRI entre 0,5 i 1,5 indeterminat
- APRI >1,5 identifica la presència de fibrosi significativa.

#### 4.1.1.4. Índex FORNS.

Aquest índex inclou l'edat, GGT, colesterol i plaquetes i es calcula segons la següent fórmula (38):

$$7.811-3.131 \times \ln [\text{plaquetes (109/L)}] + 0.781 \times \ln [\text{GGT (IU/L)}] + 3.467 \times \ln [\text{edat (anys)}] - 0.014 \times [\text{colesterol (mg/dl)}].$$

Segons el resultat.

- Índex FORNS <4,21 exclou la presència de fibrosi significativa
- Índex FORNS entre 4,21 i 6,90 indeterminat
- Índex FORNS >6,90 identifica la presència de fibrosi significativa.

#### 4.1.1.5. Easy liver fibrosis test (eLIFT).

Aquest algorisme està constituït per l'edat, sexe, GGT, AST, plaquetes i taxa de protrombina (286).

El resultat és sumatori de les diferents variables.

- Una puntuació  $\geq 8$  és diagnòstica de fibrosi significativa.

#### 4.1.1.6. BARD score.

Aquest índex inclou el quocient AST/ALT, IMC i DM2. El quocient AST/ALT  $\geq 0,8$  (+2 punts); IMC  $\geq 28$  (+1 punt); DM2 (+1 punt) (313).

- Una puntuació de 0 o 1 exclou la presència de fibrosi significativa.
- Una puntuació de 4 identifica la presència de fibrosi significativa.

#### 4.1.1.7. Transaminases

Qualsevol alteració individual d'aquestes o la seva combinació ALAT>40 o ASAT>40 o GGT>40.

## **4.2. Comparació entre els marcadors de diagnòstic i de fibrosi en el FGNA**

### **4.2.1. Capacitat diagnòstica dels diferents marcadors serològics**

Es vol estudiar la capacitat diagnòstica dels diferents marcadors, comparant-los entre ells, prenent com a referència l'EH i la biòpsia hepàtica.

### **4.3. Marcadors serològics en pacients amb un o més factors de risc de fibrosi**

Per aquesta anàlisi es van tenir en compte els diferents components de la SM i el consum de risc d'alcohol. A l'igual que en la resta d'anàlisi el patró de referència són el resultat de l'EH i la biòpsia hepàtica.

### **4.4. Mètodes serològics directes**

#### **4.4.1. Enhanced liver fibrosis.**

Aquest índex inclou l'AH, el PIIINP i el TIMP1 i es calcula segons la següent fórmula (314):

$$\text{ELF} = 2.278 + 0.851 \ln (\text{HA}) + 0.751 \ln (\text{PIIINP}) + 0.394 \ln (\text{TIMP1}).$$

Segons el resultat.

- ELF entre 6,6-7,4: fibrosi lleu.
- ELF entre > 7,4-10,5: fibrosi lleu-moderada.
- ELF entre > 10,5-12: fibrosi moderada-severa.
- ELF superior a 12: cirrosi.

### **4.5. Anàlisi estadística**

Els diferents marcadors es van correlacionar entre si i amb el valor de l'EH mitjançant coeficients de correlació de Pearson (i d'Spearman quan les variables eren clarament no normals). Es van comparar les diferents mitjanes dels marcadors vs valors d'EH elevats (usant els punts de tall de 8 kPa o de 9,2 kPa) mitjançant test de t d'Student. En el cas d'usar-se medianes per descriure les variables contínues (perquè la distribució s'allunya de la normalitat) s'ha usat el test de Mann-Whitney per comparar aquestes medianes. Quan els marcadors estaven categoritzats (per exemple  $\text{FLI} \geq 60$ ) es va usar



el test de chi-quadrat per comparar-ho amb una EH elevada. La capacitat diagnòstica de cada marcador vs l'EH s'avaluà mitjançant corbes ROC i la seva àrea sota la corba, comparant aquestes àrees amb el test de DeLong, DeLong i Clarke-Pearson.

## **5. LA SÍNDROME METABÒLICA COM A FACTOR DES RISC DE FIBROSI HEPÀTICA EN SUBJECTES AMB CONSUM DE RISC D'ALCOHOL.**

Les dues patologies més prevalents en la població general són el FGNA i la malaltia HA. A més, hi ha un augment important dels factors metabòlics, com ara l'obesitat, DM2, dislipèmia i molt especialment la presència de SM. El consum d'alcohol i la SM són factors de risc molt freqüents de malalties hepàtiques cròniques i, per tant, poden coexistir en alguns subjectes. Diverses investigacions han analitzat la interacció potencial entre aquests dos factors de risc i el desenvolupament de malalties hepàtiques cròniques. Els enfocaments adoptats en aquestes investigacions han estat o bé avaluar l'efecte del consum d'alcohol en cohorts de pacients amb esteatosi hepàtica a causa de FGNA o bé l'efecte de la SM en cohorts de pacients amb malaltia HA avançada, particularment l'hepatitis alcohòlica o la cirrosi (315-320). No obstant això, hi ha molt poca informació sobre l'efecte potencial de la SM com a cofactor de malalties hepàtiques a nivell poblacional en cohorts de subjectes classificats segons els diferents nivells de consum d'alcohol (321,322). Aquest plantejament té l'avantatge respecte als dos enfocaments anteriors de ser capaç de mostrar l'efecte de la SM en les primeres etapes de la malaltia hepàtica alcohòlica abans que es desenvolupi l'hepatitis alcohòlica o la cirrosi.

Per tant, en la present tesi s'ha estudiat l'efecte de la SM sobre el risc de fibrosi hepàtica en pacients amb consum d'alcohol. La fibrosi hepàtica es va avaluar en tots els subjectes mitjançant l'EH seguida de la biòpsia hepàtica en subjectes seleccionats. La SM es va avaluar en els subjectes segons el consum actual o passat d'alcohol.

El consum d'alcohol es va determinar mitjançant l'entrevista dels subjectes inclosos en l'estudi. Les preguntes sobre el consum d'alcohol consistien en saber la quantitat dels diferents tipus de begudes (licors, cerveses, vi) que consumien habitualment cada setmana. Les quantitats expressades es van convertir en UBEs. Una UBE equival a un consum de 10 g d'alcohol (323). Es va recollir informació sobre el consum d'alcohol, tant actual com anterior. De manera, que els subjectes, es van classificar en 3 grups: 1) no-bevedors o sempre abstinentes, 2) antics bevedors (subjectes amb antecedents de consum d'alcohol però abstinentes en l'actualitat) i 3) bevedors actuals: subjectes amb consum d'alcohol d'almenys una UBE a la setmana en el moment de l'estudi; aquest darrer grup es va classificar a més en 2 subgrups, "bevedors moderats", si el consum d'alcohol era de  $\leq 21$  UBEs/setmana en homes i  $\leq 14$  UBEs/setmana en dones, i "bevedors de risc" si el consum d'alcohol era superior aquests valors, tenint en compte les dades publicades prèviament en relació a aquestes classificació (323). En els

subjectes amb consum d'alcohol, també es va preguntar sobre la durada en anys del consum, per tal de poder esbrinar l'impacte de l'exposició a l'alcohol durant els anys.

La SM es va estudiar segons els criteris americans de la NCEP-ATP III que s'ha definit amb anterioritat (306). L'estudi de la presència de fetge gras s'ha fet segons el marcador serològic FLI (287) i el risc de fibrosi s'ha determinat segons els resultats dels marcadors serològics NFS (276) i FIB-4 (40), tots ells definits amb anterioritat. A més, la fibrosi s'ha determinat mitjançant l'EH (28) segons els criteris descrits anteriorment i aquells que presentaven un valor per sobre del valor predeterminat se'ls hi va practicar una biòpsia hepàtica també segons els criteris ja descrits (137).

### **5.1. Anàlisi estadística**

La principal variable del resultat és la prevalença de fibrosi hepàtica, avaluada per l'augment de valors d'EH, definits per un valor  $\geq 8$  kPa, que era el valor de tall definit en el protocol en el moment del disseny d'aquest estudi. No obstant això, tenint en compte l'evidència actual sobre el límit òptim de fibrosi hepàtica en la població general i en subjectes amb consum de risc d'alcohol, també s'ha realitzat les anàlisis amb el valor de tall d'EH  $\geq 9,1$  kPa. Per l'anàlisi descriptiva es van utilitzar freqüències i percentatges (variables categòriques), mitjanes i ES (variables contínues distribuïdes simètriques) i rang mitjà i interquartil (variables contínues esbiaixades). Les comparacions bivariants de EH alt / baix (utilitzant els valors de tall esmentats) amb variables explicatives potencials es van realitzar mitjançant proves chi-quadrades (percentatges, utilitzant la versió exacta quan correspon), proves t (mitjanes) i proves de Mann-Whitney. En el cas de comparacions de més de 2 mitjanes, es va utilitzar l'anàlisi de la variància (o prova de Wilcoxon per a medianes). Es va utilitzar la regressió logística multivariant per avaluar la relació entre EH alta / baixa (variable dependent) i factors de risc ajustats mútuament (més l'edat). Només es van incloure variables amb un valor de p inferior a 0,05 als models.

## **6. ANÀLISI DE COST-EFECTIVITAT DE L'ELASTOGRAFIA HEPÀTICA EN LA DETECCIÓ PRECOÇ DE FIBROSI HEPÀTICA EN L'ATENCIÓ PRIMÀRIA.**

Per dur a terme aquest estudi, i per tal de tenir un nombre suficient de subjectes es van incloure pacients de set estudis prospectius independents previs que van utilitzar l'EH mitjançant el FibroScan® com a eina diagnòstica per a la detecció de fibrosi hepàtica. En aquest sentit es va constituir un consorci europeu per tal de poder analitzar les dades conjuntament i elaborar nous protocols d'estudi. En aquest estudi es van incloure els 3.014 subjectes de la present tesi. Finalment es van estudiar 6.295 pacients de sis països diferents: França (126), Espanya (324), (325), Dinamarca (326), Regne Unit (327), Alemanya (328) i Hong Kong (128). En relació a Espanya, es va incloure també, junt amb l'actual cohort, un estudi sobre 215 subjectes de la població general amb factors de risc metabòlics de FGNA per estudiar la capacitat predictiva del CAP i del FLI per al diagnòstic d'esteatosi severa. Per això, per a l'anàlisi, es van considerar els dos estudis d'Espanya com la mateixa cohort, i s'han definit 6 cohorts, una de cada país. Les cohorts d'Espanya, Alemanya i Hong Kong inclouen subjectes de la població general majors de 18 anys, la cohort de França inclou subjectes de la població general majors de 45 anys, la cohort de Regne Unit inclou pacients majors de 18 anys amb factors de risc de malaltia hepàtica crònica (amb consum de risc d'alcohol o DM2) i la cohort de Dinamarca va incloure només pacients majors de 18 anys amb consum de risc d'alcohol. El consum de risc d'alcohol es va definir com un consum  $\geq 14$  UBEs per setmana en dones i  $\geq 21$  UBEs per setmana en homes (323,329). Es van incloure dades sobre demografia, examen físic, paràmetres clínics i de laboratori juntament amb comorbiditats.

Les cohorts de Dinamarca, Espanya, França i el Regne Unit van ser dissenyades per obtenir una biòpsia hepàtica per confirmar la fibrosi hepàtica. Tots els pacients de Dinamarca van ser convidats a sotmetre's a una biòpsia hepàtica degut als antecedents de consum de risc d'alcohol, ja sigui previ o actual. Els pacients de la cohort actual de la tesi i els de l'estudi de Fabrelles et al (cohorts de població general) van ser convidats a sotmetre a una biòpsia hepàtica si EH  $> 6.8$  kPa ( $n=299$ ), però només un terç d'aquests pacients van acceptar. Els pacients francesos van ser remesos a biòpsia si EH  $> 8.0$  kPa i els pacients del Regne Unit si EH  $> 8.2$  kPa i al menys un factor de risc, ja sigui per alcoholisme o SM.

Finalment, es van incloure dades de 352 pacients amb biòpsia hepàtica (199 de Dinamarca, 101 d'Espanya, 27 de França i 25 del Regne Unit). La fibrosi hepàtica es va determinar mitjançant el sistema de puntuació de Kleiner (137). Els marcadors

serològics FIB-4, NFS i FLI (40,276,287) també es van calcular per a cada pacient amb biòpsia per tal d'avaluar la precisió i comparació diagnòstica entre els diferents mètodes diagnòstics.

La Figura 18 mostra el diagrama de flux de reclutament, elegibilitat, anàlisi i biòpsies hepàtiques disponibles de cada cohort. La inferència pel que fa a l'estratificació de la fibrosi és una limitació del 5,5% dels pacients que es van sotmetre a una biòpsia hepàtica.

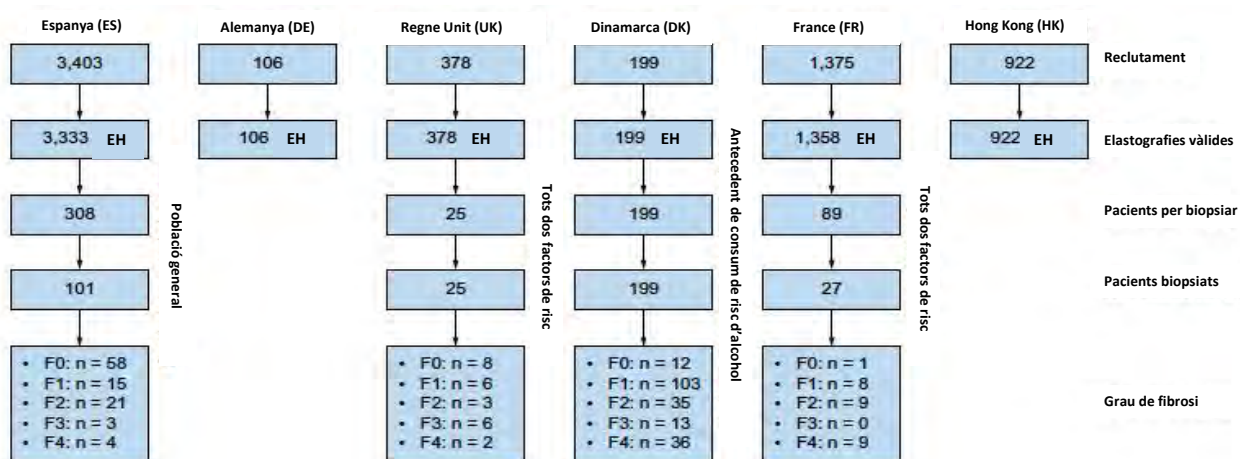


Figura 18. Diagrama de flux de les diferents cohorts

## 6.1. Anàlisi estadística

Les bases de dades es van fusionar i es van analitzar amb arbres d'inferència condicional (CTREE) (330), per explorar les relacions entre les característiques sociodemogràfiques, les comorbiditats, l'EH i la fibrosi hepàtica segons el resultat de la biòpsia hepàtica. El CTREE es va ajustar al grup de biòpsia hepàtica per obtenir els punts de tall òptims per als quals la distribució de la classificació de l'etapa de fibrosi té la major precisió diagnòstica. La capacitat predictiva del model es va avaluar mitjançant l'àrea sota la corba AUROC per al resultat binari ( $\geq F2$ ), i es va utilitzar la precisió en 3 grups (F0-F1, F2-F3, F4) per provar la precisió del model CTREE (331).

Un total d'un 6% de les dades recollides faltaven en la mostra final en la base de dades. Per aquest motiu, van ser imputats amb una aleatorització d'imputació múltiple, obtenint un error quadràtic mitjà normalitzat de 0,0626 per a variables numèriques i una proporció d'entrades classificades falsament de 0,0136. Per evitar el sobreajustament del model de diagnòstic, es va realitzar un procediment de validació creuada en 5 vegades amb 5 repeticions. L'equilibri de classe a través de les etapes de fibrosi es va assegurar

utilitzant una tècnica de sobre mostreig minoritari sintètic (332). El calibratge entre les probabilitats observades i pronosticades es va realitzar mitjançant inspecció visual dels gràfics de calibratge. Els grups de fibrosi F2, F3 i F4 es van agrupar per avaluar el rendiment de la discriminació binària.

El millor anàlisi de subconjunts (333) es va realitzar per a les covariables diferents de l'EH per tal d'aconseguir una reducció teòrica en les proves innecessàries. Els models predictius van incloure tots els predictors disponibles com a candidats potencials pel diagnòstic: sexe, edat, consum actiu d'alcohol, tabaquisme actiu, hepatitis viral, pes, alçada, IMC, perímetre abdominal, pressió arterial sistòlica, pressió arterial diastòlica, DM2, obesitat, HTA, nivell de glucosa, creatinina, colesterol total, colesterol LDL (lipoproteïnes de baixa densitat), colesterol HDL (lipoproteïnes d'alta densitat), triglicèrids, AST, ALT, GGT, albúmina, ferritina, leucòcits, hemoglobina, plaquetes, sonda EH (M o XL), valor EH LSM i EH IQR. A causa de l'heterogeneïtat no observada de la població, els efectes fixos van ser especificats prèviament en tots els models. Els números necessaris per a la prova per diagnosticar un cas de fibrosi significativa es van calcular per a cada país i factor de risc; incloent població general, obesitat, DM2 i consum de risc d'alcohol. Totes les anàlisis estadístiques es van realitzar amb R 3.4.1. (334).

## **6.2. Model econòmic**

Els resultats dels programes de cribratge de les sis cohorts es van utilitzar en l'ajust de paràmetres d'un model de cost-efectivitat prèviament publicat (335) per avaluar la cost-efectivitat del cribratge en la població general, així com en les poblacions amb factors de risc de malalties hepàtiques cròniques com la DM2, obesitat o consum d'alcohol. Aquest model econòmic compara dues vies diferents de detecció i estratificació de risc per malaltia HC avançada (fibrosi hepàtica significativa) en adults amb sospita de FGNA o HA en un entorn d'Atenció Primària. Una via utilitza l'EH i l'altra via utilitza el valor de les transaminases (com diagnòstic estàndard) per detectar pacients amb malaltia HC. El model considera la prevalença de cada etapa de fibrosi en una població determinada diagnosticada per EH i valor de les transaminases. També considera la classificació errònia del diagnòstic, la taxa de progressió natural de la malaltia en cada etapa, la qualitat de vida mesurada com anys de vida ajustats per qualitat (QALYs), els costos anuals de cada etapa de la malaltia i els costos de diagnòstic.

La perspectiva del model econòmic es va generar només amb costos directes del proveïdor, amb un horitzó temporal de 30 anys i una taxa de descompte del 3% tant en els resultats de salut com en els costos. Els resultats de salut es van mesurar com QALYs. No es van fer suposicions respecte als llindars de disposició a pagar a causa de la multiplicitat de sistemes de salut, però, seguint les recomanacions de l'OMS (336) per als llindars internacionals, definim "intervencions altament rendibles" com aquelles per sota del producte interior brut (PIB) per càpita de país per QALYs guanyat. Els costos estaven en 2.017€, la paritat de poder adquisitiu (PPA) es va ajustar per als sis països, i la població objectiu era una cohort de pacients amb una mitjana d'edat de 45 anys en risc, ja sigui amb antecedents de consum d'alcohol, DM2, SM o una combinació d'elles. Es van considerar tant les taxes de fracàs de l'EH i la biòpsia hepàtica com els esdeveniments adversos associats a la biòpsia hepàtica (337).

La relació cost-efectivitat incremental (ICER) (338)Wright) es va definir com el resultat principal del model econòmic. ICER expressa el valor econòmic d'una intervenció respecte a un comparador, en aquest cas el cribratge amb EH versus el resultat histològic. L'ús de la diferència en QALYs com a mesura d'ICER permet comparar el valor entre intervencions i patologies.

Per poder aplicar el model a diferents sistemes de salut, es van haver de fer diverses suposicions, principalment pel que fa a l'atenció i l'estructura de costos, la taxa de progressió de la fibrosi i l'efectivitat del tractament sobre la taxa de progressió de la fibrosi. Per tant, es va realitzar una anàlisi de sensibilitat probabilística per a aquests paràmetres per tenir en compte el nivell d'incertesa associat a les nostres estimacions.

L'única diferència aplicada en el model de configuració estava en l'estructura de costos de les proves d'elastografia, que es descriu a l'apèndix 1 del model; també es presenten detalls dels supòsits i probabilitats de transició del present estudi. Tots els anàlisis del model es van incorporar en el programa Microsoft Excel 2016 i estan disponibles com a material complementari per al seu posterior ús no comercial.

## **RESULTATS**





## **1. MALALTIA HEPÀTICA EN LA POBLACIÓ GENERAL**

### **1.1. Descripció de la població d'estudi.**

#### **1.1.1. Participació.**

Del total d'Equips d'Atenció Primària de les comarques del Barcelonès Nord i Maresme finalment van participar 16 equips.

El treball de camp de l'estudi es va iniciar l'abril de 2012 i va finalitzar el maig de 2016.

La població adulta entre 18 i 75 anys assignada als centres d'Atenció Primària participants va ser de 162.950 habitants, dels quals, un cop exclosos 2004 subjectes (1,23%) que estaven diagnosticats de malaltia hepàtica coneguda segons el registre de l'ECAP, la població diana va ser de 160.946 habitants. D'aquests, es va seleccionar una mostra a l'atzar de 4.866 subjectes per participar en l'estudi. Es van realitzar unes 900 trucades telefòniques per centre per poder contactar amb els participants. En alguns casos es van fer fins a 6 intents de trucades telefòniques per poder contactar amb el subjecte. Dels 4.866 subjectes que van ser convidats a participar, finalment ho van fer 3.076 que correspon a un 63,2%. El motiu principal pel qual 1.790 (36,8%) subjectes van rebutjar participar en l'estudi va ser perquè no els interessava i la dificultat de poder contactar-hi ja sigui per canvi de domicili, de número de telèfon o per barrera idiomàtica. Finalment, dels 3.076 participants van ser exclosos 62 subjectes pels següents motius: a 46 no es va poder realitzar la elastografia per un IMC elevat i no disposar de la sonda adequada de mesurament per a aquests casos, 13 tenien diagnosticada una malaltia hepàtica crònica a la història clínica, 2 eren registres duplicats i 1 cas tenia menys de 18 anys en el moment del reclutament. Finalment, la mostra per a l'anàlisi va ser de 3.014 subjectes.

#### **1.1.2. Característiques basals de la mostra**

##### **1.1.2.1. Característiques sociodemogràfiques, clíniques i comorbiditats**

Les característiques basals del total dels 3.014 subjectes participants es mostren en la taula 5.

Taula 5. Variables sociodemogràfiques, clíniques i comorbiditats

	n = 3.014
<b>Sexe masculí, n(%)</b>	1.289 (43)
<b>Edat, mitjana (<math>\pm</math>DE)</b>	54 $\pm$ 12
18-29 anys, n(%)	112 (3,7)
30-39 anys	316 (10,5)
40-49 anys	555 (18,4)
50-59 anys	843 (27,9)
60-75 anys	1.188 (39,4)
<b>Ètnia, n(%)</b>	
Caucàsica	2.818 (95)
Llatins	104 (3,3)
Nord-africans	24 (0,8)
Subsaharians	25 (0,8)
Asiàtics	4 (0,1)
<b>Nivell d'estudis, n(%)</b>	
Primària	1340 (43)
Secundària	926 (31)
Sense estudis	417 (14)
Universitaris	355 (12)
<b>Consum d'alcohol (UBE/Setmana), mitjana (<math>\pm</math>DE)</b>	11,6 $\pm$ 12
<b>Consum d'alcohol, n(%)</b>	
Moderats	1.514 (50)
Risc	277 (9)
Homes	215 (77,6)
Dones	62 (22,4)
Abstemis	1.243 (41)
<b>Consum de tabac, n(%)</b>	
Mai fumadors	1.447 (47)
Ex fumadors	884 (29)
Fumadors actius	713 (24)
<b>Comorbiditats, n(%)</b>	
Hipertensió arterial	791 (26)
Diabetis tipus 2	308 (10)
Hipercolesterolèmia	1128 (37)
Hipertrigliceridèmia	321 (11)
<b>Síndrome metabòlica, n(%)</b>	817 (28)

Dades en percentatge (%) o mitjana ( $\pm$ DE).

El percentatge de participació va ser més elevat entre el sexe femení. Respecte al rang d'edat, l'estudi comprenia subjectes entre els 18 i 75 anys, tot i que la mitjana de edat era de 54 $\pm$ 12 anys, el percentatge de participació va ser més gran a mesura que augmentava l'edat.

La immensa majoria dels subjectes participants van ser d'ètnia caucàsica. Entre aquests, el 92% eren originaris d'Espanya, un 1% d'altres països europeus i un 7% de països de fora d'Europa. Els motius principals de la menor participació de subjectes entre les ètnies no caucàsiques es va atribuir principalment a: 1. La barrera idiomàtica en la comprensió de la finalitat i el desenvolupament de l'estudi i 2. La dificultat en l'obtenció de dades administratives de contacte, a causa dels freqüents trasllats de domicili en aquestes comunitats.

Com s'ha esmentat en la metodologia, el consum d'alcohol es va determinar per unitats de beguda estàndard (UBE). Es va definir com a consum de risc en la present tesi una ingesta d'alcohol  $\geq 21$  UBE per setmana en homes i  $\geq 14$  UBE per setmana en dones, 277 (9%) subjectes van declarar un consum de risc, dels quals la majoria 215 (77,6%) van ser homes en relació al nombre de dones 62 (22,4%). El consum mitjà entre els bevedors va ser de 11,6 UBE per setmana ( $DE \pm 12$ ). El percentil 50 de consum d'alcohol entre els homes va ser de 6 (RIQ 16), significativament superior a el de les dones que va ser de 0 (RIQ 2) ( $p < 0.001$ ).

El consum de tabac va ser significativament superior en els homes (71% alguna vegada fumadors) en relació a les dones (39%) ( $p < 0.001$ ).

El diagnòstic de les diferents comorbiditats es va aconseguir a través de l'història clínica electrònica dels subjectes. De les diferents comorbiditats no hi van haver diferències entre el percentatge de subjectes amb hipercolesterolèmia en homes (38%) i dones (37%)  $p=0,671$ . Per contra, si que hi van haver diferències entre els dos sexes en relació a la HTA, homes (31%) i dones (23%), hipertriglicèridèmia homes (13%) i dones (9%) i DM2 homes 14% i dones (7%),  $p < 0,001$ .

La SM es va determinar mitjançant els criteris americans de la NCEP-ATPIII. Un 28% dels subjectes presentaven una SM dels quals, el 26% eren dones i el 32% homes,  $p < 0,001$ .

### 1.1.2.2. Característiques de les diferents variables de l'exploració física.

Taula 6. Variables de l'exploració física

	N = 3.014
<b>Pes</b> en kg, mitjana ( $\pm$ DE)	74,6 $\pm$ 15,2
<b>Talla</b> en cm, mitjana ( $\pm$ DE)	162 $\pm$ 9
<b>Perímetre abdominal</b> , en cm, mitjana ( $\pm$ DE)	
Cintura	94,4 $\pm$ 13,1
Maluc	104 $\pm$ 10 (18,4)
<b>Obesitat abdominal</b> , n(%)	1.485 (50)
<b>Índex de massa corporal</b> , kg/m <sup>2</sup> , mitjana ( $\pm$ DE)	28,3 $\pm$ 5,1
Sobrepès, $\geq$ 25 a <30 kg/m <sup>2</sup> , n(%)	1.251 (42)
Obesitat, $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup> , n(%)	933 (31)
<b>Pressió arterial</b> , mmHg, mitjana ( $\pm$ DE)	104 (3,3)
Sistòlica	126 $\pm$ 17
Diastòlica	80,3 $\pm$ 10,0

La mitjana del pes va ser significativament superior en els homes (81,6 $\pm$ 15,2 kg) en relació a les dones (68,6 $\pm$ 13,1 kg),  $p < 0,001$ .

En relació a la talla els homes van ser de mitjana més alts (170 $\pm$ 7 cm) en relació a les dones (157 $\pm$ 6 cm),  $p < 0,001$ .

La mitjana de la circumferència de la cintura en els homes va ser de 99 $\pm$ 11,3 cm, superior a les dones 90,4 $\pm$ 12,3 cm,  $p < 0,001$  i la circumferència dels malucs en les dones va ser 104 $\pm$ 11 cm superior a la dels homes 102 $\pm$ 8 cm,  $p < 0,001$ . El 50% dels subjectes tenien obesitat abdominal.

No hi van haver diferències en relació a la mitjana de l'IMC entre els homes 28,3 $\pm$ 4,3 kg/m<sup>2</sup> i les dones de 28 $\pm$ 5,2 kg/m<sup>2</sup> ( $p = 0,073$ ). Del total dels subjectes un 31% tenien obesitat, un 42% sobrepès, 25% normopès i un 2% infrapès. És important destacar, en base a aquests resultats, que un 73% de la població presentava obesitat o sobrepès.

En les dones la mitjana de pressió arterial sistòlica i diastòlica va ser de 121 $\pm$ 16 mmHg i 78,9 $\pm$ 9,7 mmHg respectivament i en els homes la mitjana de pressió arterial sistòlica i diastòlica va ser de 132 $\pm$ 16 mmHg i 82,1 $\pm$ 10,2 mmHg respectivament.

### 1.1.2.3. Característiques de les diferents determinacions analítiques.

En quant als paràmetres analítics sol·licitats es van obtenir els resultats que es mostren a la taula 7, tant pel que fa a mitjanes i desviació estàndard com de percentatge d'alteració.

Taula 7. Distribució de mitjanes i desviació estàndard dels paràmetres analítics.

Paràmetres	Valor normal	n(%) o mitjana (±DE) <sup>a</sup>
Hemoglobina (g/dl)	12,0-16,0	14,2 ± 1,4
Leucòcits (x 1000/ $\mu$ l)	4,00-11,00	6,77 ± 1,85
Plaquetes (x 1000/ $\mu$ l)	150-400	243 ± 60
Glicèmia (mg/dl)	68-110	101 ± 26
HbA1C (%)	4,0-6,0	5,7 (0,7)
Colesterol total (mg/dl)	69-200	213 ± 39
HDL (mg/dl) <sup>b</sup>	Homes<40 dones <50	55 ± 13
LDL (mg/dl) <sup>c</sup>	<130	134 ± 35
Triglicèrids (mg/dl)	26-150	124 ± 81
AST (U/L)	5-40	24 ± 9
ALT (U/L)	5-40	24 ± 14
Transaminases elevades (U/L) (n, %)	>40	251 (9)
ALT >80 (U/L) (n, %)		39 (1,3)
GGT (U/L) (mitjana, IQR)	0-40	23 (17-35)
Fosfatasa alcalina (U/L)	30-120	79 ± 26
Bilirubina total (mg/dl)	0,30-1,20	0,6 ± 0,3
Ferritina (ng/ml)	30-400	118 ± 118
Transferrina (%)	20-50	27,4 (11,1)
Siderèmia (pg/dl)	33-202	89,0 (36,0)
HBSAg (n, %)		23 (0,7)
Anti VHC (n, %)		9 (0,3)

<sup>a</sup>Dades en percentatge (%) o mitjana (±DE), excepte per GGT la qual és mitjana i IQR. <sup>b</sup>Segons criteris NCEP ATP III.

<sup>c</sup>Valors en prevenció primària.

A la taula 8, es mostra el percentatge de subjectes que van presentar alteració dels principals paràmetres analítics.

Entre les variables analítiques cal destacar que un 9% de la població va presentar un valor per sobre de la normalitat de les transaminases i un 1,3% un valor d'ALT per sobre de 80 U/L. A més, una dada molt rellevant és el baix percentatge de subjectes (0,3%) entre la població que van presentar positivitat del VHC.

Taula 8. Percentatge d'alteració dels paràmetres analítics en la població.

Variables analítiques	n (%)
<b>Colesterol total</b> (>200 mg/dl)	1.701 (61%)
<b>Glicèmia</b> (>110 mg/dl)	1.044 (36%)
<b>LDL</b> (>130 mg/dl) <sup>a</sup>	271 (35%)
<b>Triglicèrids</b> (>150 mg/dl)	717 (25%)
<b>HDL</b> (<50mg/dl dones y <40mg/dl homes) <sup>b</sup>	573 (20%)
<b>GGT</b> (> 40 U/L)	577 (20%)
<b>ALT</b> (> 40 U/L)	236 (8%)
<b>HbA1c</b> (> 6%)	386 (14%)
<b>Transaminases elevades</b> (> 40 U/L)	251 (9%)
<b>ALT</b> (> 80 U/L)	39 (1,3%)
<b>HBsAg</b> positiu	23 (1%)
<b>Anti VHC</b> positiu	9 (0,3%)

<sup>a</sup>Valors en prevenció primària. <sup>b</sup>Segons criteris NCEP ATP III.

#### 1.1.2.4. Prevalença d'esteatosi segons el Fatty Liver Index.

Taula 9. Percentatge d'alteració del FLI entre la població

Fatty Liver Index	n (%)
< 30 (no esteatosi)	934 (33%)
30-60 (indeterminat)	823 (29%)
≥ 60 (esteatosi)	1.062 (38%)

És important remarcar l'important nombre de subjectes (1.062) que presentaven un valor de FLI per sobre de 60 el que indica un percentatge de FGNA del 38%.

#### 1.1.2.5. Ecografia abdominal.

Es va practicar en 329 subjectes, ja sigui per una elevació del valor de les transaminases o bé en aquells subjectes que segons el protocol devien de ser biopsiats en els hospitals de referència i que finalment no van acceptar.

En aquestes exploracions ecogràfiques, 212 (64%) subjectes presentaven una esteatosi hepàtica, 115 (35%) un fetge ecogràficament normal, 1 (0,5%) presència d'hepatomegalia i 1 (0,5%) signes d'hipertensió portal.

## **1.2. Estudi de fibrosi hepàtica**

### **1.2.1. Elastografia hepàtica**

#### **1.2.1.1. Distribució dels valors elastogràfics en la població**

Es va realitzar el mesurament de la RH mitjançant l'EH, obtenint una mitjana elastogràfica de  $5,0 \pm 2,2$  kPa. El rang de la distribució va ser de 2,0 kPa a 46,4 kPa. Es va establir el valor igual o major a 6,8 kPa per considerar la elastografia alterada. Ja s'ha esmentat, que aquest punt de tall es va determinar sobre la base de la informació que hi havia a la bibliografia en el moment del disseny de la present tesi, on es suggeria que aquest valor indicaria la presència de fibrosi significativa en els pacients amb FGNA. Atès que es tractava d'un estudi poblacional de subjectes aparentment sans, era d'esperar trobar un percentatge elevat dels mateixos amb FGNA i es va optar per considerar alterada l'elastografia a partir d'aquest punt de tall.

A la figura 19 es representa la distribució dels valors de l'EH en la població. Les línies blaves de la distribució de densitat marquen els percentils 25 i 75 corresponents als punts de tall de 3,8 i 5,6 kPa, respectivament. Les línies verdes marquen els percentils 5 i 95 de la distribució corresponent als punts de tall de 3 i 8,5 kPa, respectivament. Així, el major percentatge de valors elastogràfics van estar inclosos entre els percentils 25 al 75 dels quals corresponen als valors entre 3,8 kPa a 5,6 kPa.

A la figura 19, no es van incloure 11 subjectes que van presentar valors elastogràfics molt elevats compresos entre 15,8 i 46,4 kPa.



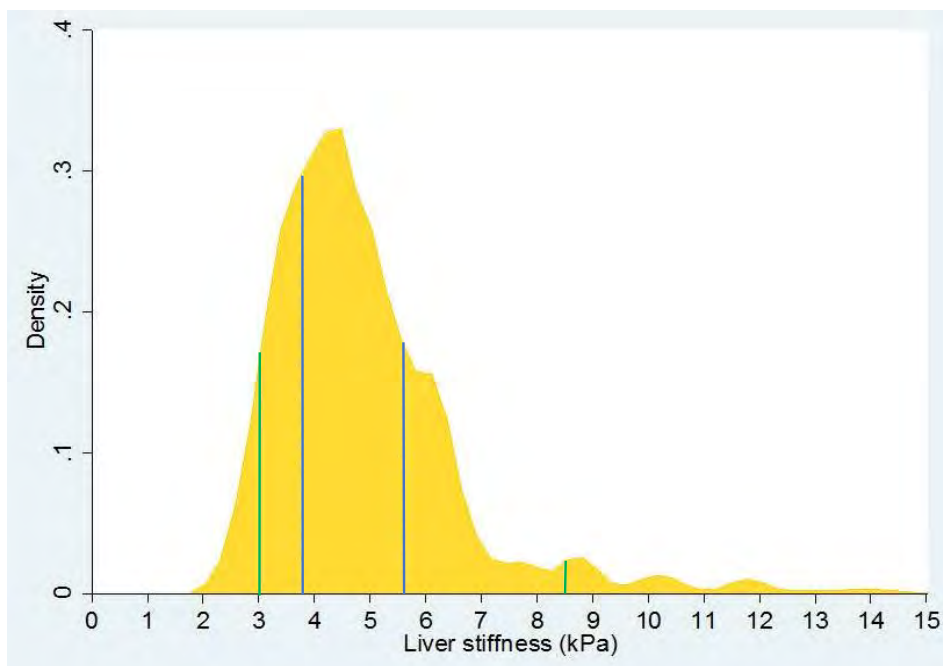


Figura 19. Distribució dels punts de tall elastogràfics.

### 1.2.1.2. Prevalença de fibrosi hepàtica segons els diferents punts de tall elastogràfics.

A la figura 20, s'observen els percentatges de subjectes amb alteració elastogràfica segons els diferents punts de tall. Així, un 9% (IC95%, 8,0%-10,1%) que correspon a 271 subjectes van presentar un valor elastogràfic  $\geq 6,8$  kPa, un 5,8% (IC95%, 5,0%-7,8%) corresponent a 174 subjectes van presentar un valor elastogràfic  $\geq 8,0$  kPa, i un 3,6% (IC95%, 2,9%-4,3%) corresponent a 107 subjectes van presentar un valor elastogràfic  $\geq 9,0$  kPa.

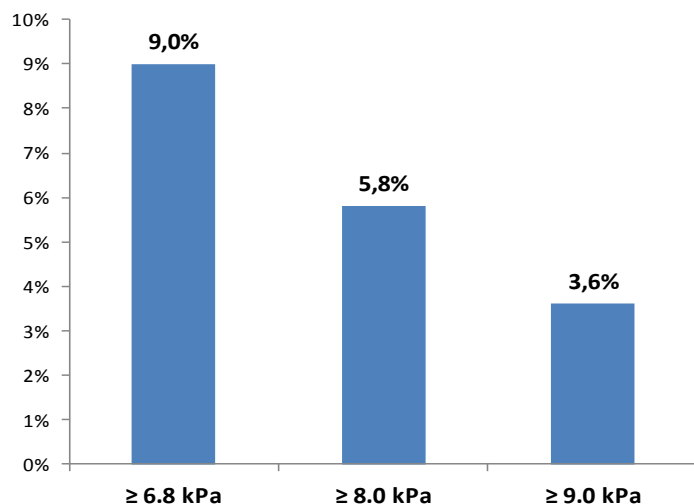


Figura 20. Percentatge de subjectes amb alteració elastogràfica segons els punts de tall

Cal remarcar que la distribució per edat i sexe de la mostra de 18 a 75 anys no coincideix plenament amb la de Catalunya. Comparat amb les dades de l'INE de l'any 2015, la mostra utilitzada per aquesta tesi té una clara infrarepresentació dels joves, especialment entre els homes, a causa de les dificultats trobades en el reclutament. Per això, hem cregut convenient calcular les prevalences estandarditzades per a la població catalana de 18 a 75 anys, obtenint els següents resultats:  $\geq 6,8$  kPa 7,7%,  $\geq 8,0$  kPa 4,6% i  $\geq 9,0$  kPa 2,8%.

Atès que en l'anàlisi inicial dels individus amb elastografia  $\geq 6.8$  kPa es van incloure els bevedors de risc i els nous casos detectats d'hepatitis B i C, posteriorment es va realitzar una nova anàlisi excloent aquests individus (304) ja que podien presentar una HC de base no detectada amb anterioritat. Es va observar que la mitjana dels valors de l'elastografia era de 4.9 kPa (DE  $\pm$  2,1) i la distribució dels individus segons els punts de tall van ser: 225 amb elastografia  $\geq 6.8$  kPa (8,3%) , 144 amb un valor  $\geq 8$  kPa (5,3%), i 88 amb un valor  $\geq 9$  kPa (3,3%), valors una mica inferiors als observats en tota la població.

Quan només es van tenir en compte els subjectes amb consum de risc d'alcohol (n=275), la prevalença d'augment de l'elastografia va ser de 16,1% (12,0-21,0), 10,3% (6,9-14,5) y 6,6% (4,0-12,0) per cadascun del 3 punts de tall, respectivament.

### **1.2.1.3. Principals factors associats a l'elastografia hepàtica mitjançant l'anàlisi univariant.**

271 (9%) subjectes tenien un valor de l'elastografia alterada  $\geq 6,8$  kPa i els restants 2.743 (91%) subjectes tenien un valor inferior a aquest punt de tall.

En la taula 10 es mostren les diferents característiques clíniques, comorbilitats i analítiques segons l'alteració o no de l'elastografia.

Taula 10. Principals factors associats a l'EH segons l'anàlisi univariant.

	Elastografia hepàtica		
	<6,8 kPa (n=2.743)	≥6,8 kPa (n=271)	
	n(%) o mitjana (DE)	n(%) o mitjana (DE)	p
<b>Sexe masculí</b>	1.114 (41)	175 (65)	<0,001
<b>Edat</b>	54 ± 12	58 ± 10	<0,001
<b>Ètnia caucàsica</b>	2.562 (94)	256 (94)	0,442
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	28 ± 5	33 ± 5	<0,001
<b>Sobrepès (≥25 - &lt;30 kg/m<sup>2</sup>)</b>	1.193 (44)	58 (21)	<0,001
<b>Obesitat (≥30 kg/m<sup>2</sup>)</b>	740 (27)	193 (71)	
<b>Obesitat abdominal<sup>a</sup></b>	1.276 (47)	209 (78)	<0,001
<b>Fumador actual</b>	647 (24)	61 (21)	<0,001
<b>Consum d'alcohol (mediana, IQR<sup>b</sup>)</b>	7 (11)	12 (19)	<0,001
<b>Bevedor de risc d'alcohol</b>	231 (8)	44 (16)	<0,001
<b>Hipertensió arterial<sup>d</sup></b>	670 (24)	121 (45)	<0,001
<b>Diabetis mellitus tipus 2<sup>d</sup></b>	223 (8)	85 (31)	<0,001
<b>Hipercolesterolemia</b>	992 (36)	136 (50)	<0,001
<b>Hipertrigliceridèmia<sup>d</sup></b>	270 (10)	51 (19)	<0,001
<b>Síndrome Metabòlica (NCEP-ATPIII)</b>	644 (25)	173 (65)	<0,001
<b>Glicèmia (&gt;110 mg/dl)</b>	99 (23)	119 (40)	<0,001
<b>HbA1c (&gt;6,0 %)</b>	5,6 (0,6)	6,2 (1,1)	<0,001
<b>Colesterol total (&gt; 200 mg/dl)</b>	213 (39)	206 (40)	0,005
<b>HDL (&lt;50mg/dl dones y &lt;40mg/dl en homes)<sup>c</sup></b>	56 (13)	48 (12)	<0,001
<b>LDL (&gt;130 mg/dl)</b>	135 (34)	126 (38)	<0,001
<b>Triglicèrids (&gt; 150 mg/dl)</b>	118 (70)	181 (136)	<0,001
<b>AST (&gt; 40 U/L)</b>	23 (8)	28 (15)	<0,001
<b>ALT (&gt; 40 U/L)</b>	23 (14)	31 (18)	<0,001
<b>Transaminases &gt;40 U/L - ≤80 U/L</b>	196 (7)	55 (21)	<0,001
<b>Transaminases &gt;80U/L</b>	29 (1,1)	10 (3,8)	<0,001
<b>GGT (&gt; 40 U/L) (mediana, IQR)</b>	22 (16-33)	36 (25-62)	<0,001
<b>HBsAg</b>	22 (1)	1 (0,4)	0,423
<b>Anti VHC</b>	8 (0,3)	1 (0,4)	0,838
<b>FLI</b>	57 (28)	84 (19)	<0,001
<b>&lt;30</b>	910 (36)	24 (9)	<0,001
<b>30-60</b>	802 (31)	21 (8)	
<b>≥ 60</b>	846 (33)	216 (83)	

<sup>a</sup> Circumferència de cintura (≥102 cm homes, ≥88 cm dones). <sup>b</sup>Rang interquartilic. <sup>c</sup>Segons criteris NCEP ATP III. <sup>d</sup>Comorbiditats segons història clínica.

Van haver diferències entre els dos grups al marge de l'edat i el sexe masculí entre les diferents variables metabòliques tant clíniques, analítiques, així com amb les diferents

comorbilitats que en el seu conjunt conformen diferents factors de risc de malaltia hepàtica crònica. Un aspecte important va ser la presència de subjectes amb SM (65%) significativament superior en relació als subjectes amb elastografia normal (25%). També és de destacar el percentatge més gran de subjectes amb un índex FLI $\geq$ 60 (83%) en els subjectes amb elastografia alterada.

A més, els valors d'ALT, AST i GGT, així com, el percentatge de subjectes amb valors de transaminases >40 U/l i ALT>80 U/l també van ser significativament superiors en el grup de persones amb alteració elastogràfica.

#### 1.2.1.4. Factors de risc associats a l'elastografia hepàtica segons l'anàlisi multivariant de regressió logística

Taula 11. Factors de risc associats a l'increment de l'EH segons l'anàlisi multivariant.

	$\geq 6,8$ kPa				$\geq 8,0$ kPa				$\geq 9,0$ kPa			
	OR	IC95%	p		OR	IC95%	p		OR	IC95%	p	
<b>Sexe masculí</b>	3,01	2,25 4,05	0,000		2,71	1,90 3,87	0,000		3,26	2,06 5,16	0,000	
<b>Transaminases (&gt;40 U/L)</b>	2,15	1,48 3,12	0,000		1,95	1,26 3,03	0,003		2,91	1,76 4,80	0,000	
<b>Obesitat abdominal<sup>a</sup></b>	3,84	2,75 5,34	0,000		4,28	2,78 6,59	0,000		4,19	2,42 7,24	0,000	
<b>Glicèmia (mg/dl)<sup>b</sup></b>	1,63	1,18 2,24	0,003		2,06	1,38 3,07	0,000		2,20	1,29 3,73	0,004	
<b>HDL baixa (mg/dl)<sup>c</sup></b>	1,51	1,10 2,07	0,011		1,68	1,16 2,44	0,006		1,67	1,05 2,66	0,030	
<b>Triglicèrids (mg/dl)<sup>d</sup></b>	1,63	1,21 2,19	0,001		1,73	1,21 2,47	0,003		1,41	0,90 2,20	0,137	
<b>Diabetis mellitus tipus 2</b>	2,13	1,49 3,05	0,000		2,00	1,33 3,01	0,001		2,28	1,40 3,74	0,001	

<sup>a</sup>Circumferència de cintura ( $\geq 102$  cm homes,  $\geq 88$  cm dones); <sup>b</sup>( $\geq 100$  mg/dL); <sup>c</sup>(<40 mg/dL homes, <50 mg/dL dones); <sup>d</sup>( $\geq 150$  mg/dL)

A la taula 11 es mostren els factors de risc associats a l'elastografia hepàtica segons els diferents punts de tall en el model d'anàlisi multivariant ajustat per edat i sexe. El principal factor de risc en qualsevol dels punts de tall va ser l'obesitat abdominal, seguit del sexe masculí, la hipertransaminasèmia, la DM2, la glicèmia  $\geq 100$  mg/dl, els triglicèrids  $\geq 150$  mg/dl, i el nivell baix de HDL. L'edat no va ser significativa en cap dels punts de tall.

De la mateixa manera, si es repeteix el model multivariant exclouent als pacients amb consum de risc d'alcohol i als que tenien una serologia positiva per al VHB i VHC (n=304), tal com s'observa en la taula 12, els resultats són similars al model anterior, observant que l'obesitat abdominal és també el principal factor de risc. Els altres factors de risc en aquest model segons el valor de l'OR, de major a menor van ser: el sexe

masculí, la DM2, transaminases >40 U/l, la glicèmia  $\geq 100$  mg/dl, el nivell baix de HDL i els triglicèrids  $\geq 150$  mg/dl.

Taula 12. Factors de risc associats a l'increment de l'EH segons l'anàlisi multivariant, exclouent els pacients amb consum de risc d'alcohol i serologies víriques positives.

	$\geq 6,8$ kPa				$\geq 8,0$ kPa				$\geq 9,0$ kPa			
	OR	IC95%	p		OR	IC95%	p		OR	IC95%	p	
<b>Sexe masculí</b>	2,86	2,08 4,05	0,000		2,74	1,87 4,03	0,000		3,49	2,12 5,72	0,000	
<b>Transaminases (&gt;40 U/L)</b>	2,18	1,44 3,29	0,000		1,91	1,16 3,14	0,011		3,27	1,875,72	0,000	
<b>Obesitat abdominal<sup>a</sup></b>	4,06	2,81 5,88	0,000		4,95	3,02 8,11	0,000		5,12	2,719,66	0,000	
<b>Glicèmia (mg/dl)<sup>b</sup></b>	1,63	1,15 2,32	0,030		2,02	1,30 3,15	0,002		2,35	1,304,25	0,004	
<b>HDL baixa (mg/dl)<sup>c</sup></b>	1,46	1,04 2,05	0,030		1,77	1,18 2,60	0,006		1,66	1,00 2,77	0,052	
<b>Triglicèrids (mg/dl)<sup>d</sup></b>	1,60	1,15 2,22	0,005		1,75	1,18 2,60	0,006		1,29	0,78 2,13	0,329	
<b>Diabetis mellitus tipus 2</b>	2,41	1,63 3,55	0,000		2,07	1,32 3,25	0,001		2,30	1,33 3,98	0,003	

<sup>a</sup>Circumferència de cintura ( $\geq 102$  cm homes,  $\geq 88$  cm dones); <sup>b</sup>( $\geq 100$  mg/dL); <sup>c</sup>(<40 mg/dL homes, <50 mg/dL dones); <sup>d</sup>( $\geq 150$  mg/dL)

### 1.2.1.5. Prevalença del percentatge d'alteració elastogràfica segons els diferents punts de tall en les diferents variables estudiades

Un aspecte important va ser la relació entre l'alteració de l'EH i els diferents factors de risc de malaltia HC, tal com es mostra en la taula 13.

Com era d'esperar, a mesura que augmenta el valor de l'elastografia, els percentatges d'alteració dels diferents paràmetres disminueix percentualment, però sense perdre representació al comparar entre sí aquests valors. Aquests percentatges dels valors elastogràfics segons cada punt de tall en les diferents variables es mostren a la taula 13.

Taula 13. Percentatge d'alteració elastogràfica en cadascuna de les variables

	Elastografia hepàtica			
		≥ 6,8 kPa (n=271)	≥ 8,0 kPa (n=174)	≥ 9,0 kPa (n=107)
	n	% (IC 95%)	% (IC 95%)	% (IC 95%)
<b>Sexe</b>				
<b>Masculí</b>	1.289	14 (12-16)	9 (7-10)	6 (5-7)
<b>Femení</b>	1.725	6 (5-7)	4 (3-5)	2 (1-3)
<b>Edat (anys)</b>				
<50	983	6 (4-7)	3 (2-4)	2 (1-3)
≥50	2.031	11 (9-12)	7 (6-8)	5 (4-6)
<b>Índex de massa corporal</b>				
Normal (<25 kg/m <sup>2</sup> )	813	2 (2-4)	1 (0-2)	0 (0-1)
Sobrepès (≥25 - <30 kg/m <sup>2</sup> )	1.251	5 (4-6)	3 (2-4)	2 (1-3)
<b>Obesitat (≥30 kg/m<sup>2</sup>)</b>	933	21 (18-23)	14 (12-16)	9 (7-11)
<b>Obesitat abdominal<sup>a</sup></b>				
No	1.498	4 (3-5)	2 (1-3)	1 (1-2)
Si	1.485	14 (12-16)	9 (8-11)	6 (5-7)
<b>Consum d'alcohol</b>				
Mai/exbevedor/bevedor moderat	2.737	8 (7-9)	5 (5-6)	3 (3-4)
Bevedor de risc (UBE) <sup>b</sup>	275	16 (12-21)	10 (7-14)	7 (4-10)
<b>Hipertensió arterial</b>				
No	2.223	7 (6-8)	4 (3-5)	2 (2-3)
Si	791	15 (13-18)	10 (8-13)	7 (5-9)
<b>Diabetis mellitus tipus 2</b>				
No	2.706	7 (6-8)	4 (3-5)	2 (2-3)
Si	308	28 (23-33)	20 (16-25)	14 (11-19)
<b>Hipertrigliceridèmia</b>				
No	2.693	8 (7-9)	5 (4-6)	3 (3-4)
Si	321	16 (12-20)	11 (8-15)	7 (4-10)
<b>Transaminases</b>				
Transaminases ≤40 U/L	2.654	8 (7-9)	5 (4-6)	3 (2-4)
Transaminases >40 U/L	251	29 (23-36)	20 (15-27)	20 (15-27)
<b>Síndrome Metabòlica (NCEP-ATPIII)</b>				
No	2.069	5 (4-6)	3 (2-3)	1 (1-2)
Si	817	21 (18-24)	14 (12-17)	9 (7-11)
<b>FLI</b>				
<30	934	3 (2-4)	1 (0-1)	0 (0-1)
30-60	823	3 (2-4)	2 (1-3)	1 (0-2)
≥60	1.062	20 (18-23)	14 (12-16)	9 (7-11)

<sup>a</sup>Circumferència de cintura (≥102 cm homes, ≥88 cm dones). <sup>b</sup>Unitat de beguda estàndard.

De manera que si prenem en consideració el punt de tall de l'elastografia  $\geq 6,8$  kPa, observem, tal com es mostra a la taula 14 i la figura 21, que la prevalença de les variables amb un valor per sobre del 20 % van ser: la DM2, un augment de les transaminases per sobre de 40 U/l, l'obesitat, la SM i l'índex FLI  $\geq 60$ .

Taula 14. Prevalença de les diferents variables en els subjectes amb alteració elastogràfica.

Elastografia hepàtica $\geq 6,8$ kPa	
	Prevalença (IC 95%)
<b>Total</b>	9 (8-10)
<b>Edat <math>\geq 50</math> anys</b>	11 (9-12)
<b>Sexe masculí</b>	14 (12-16)
<b>Obesitat abdominal<sup>a</sup></b>	14 (12-16)
<b>Hipertensió arterial</b>	15 (13-18)
<b>Hipertrigliceridèmia</b>	16 (12-20)
<b>Consum de risc d'alcohol (UBE<sup>b</sup>)</b>	16 (12-21)
<b>FLI <math>\geq 60</math></b>	20 (18-23)
<b>Obesitat</b>	21 (18-23)
<b>Síndrome Metabòlica (NCEP-ATPIII)</b>	21 (18-24)
<b>ALT y/o AST <math>&gt;40</math> U/L</b>	22 (17-28)
<b>Diabetis Mellitus tipus 2</b>	28 (23-33)

<sup>a</sup>Circumferència de cintura ( $\geq 102$  cm homes,  $\geq 88$  cm dones). <sup>b</sup>Unitat de beguda estàndard.

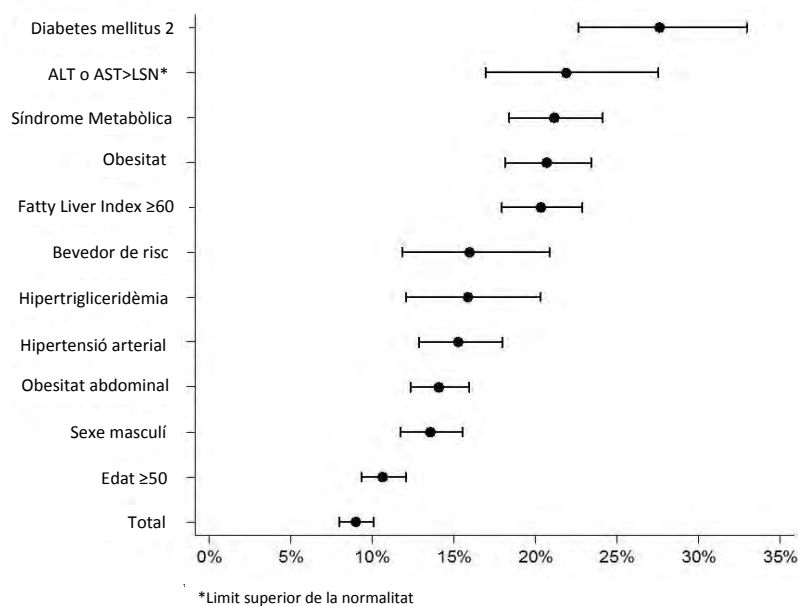


Figura 21. Prevalença de les diferents variables en els subjectes amb alteració elastogràfica

A més, hi va haver una relació significativa entre l'esteatosi, segons el valor del FLI i l'EH. Així, tal com es mostra en la figura 22, la prevalença d'elastografia amb valors elevats en pacients amb esteatosi severa (FLI  $\geq 60$ ) va ser del 20,3%, 13,7% i 8,9% segons els punts de tall de 6,8, 8,0 i 9,0 kPa, respectivament. Per contra, la prevalença d'alteració de l'elastografia en subjectes amb un valor de FLI  $< 60$  va ser del 2,6%, 1,2% i 0,4% segons els punts de tall de 6,8, 8,0 i 9,0, respectivament ( $p < 0,001$ ).

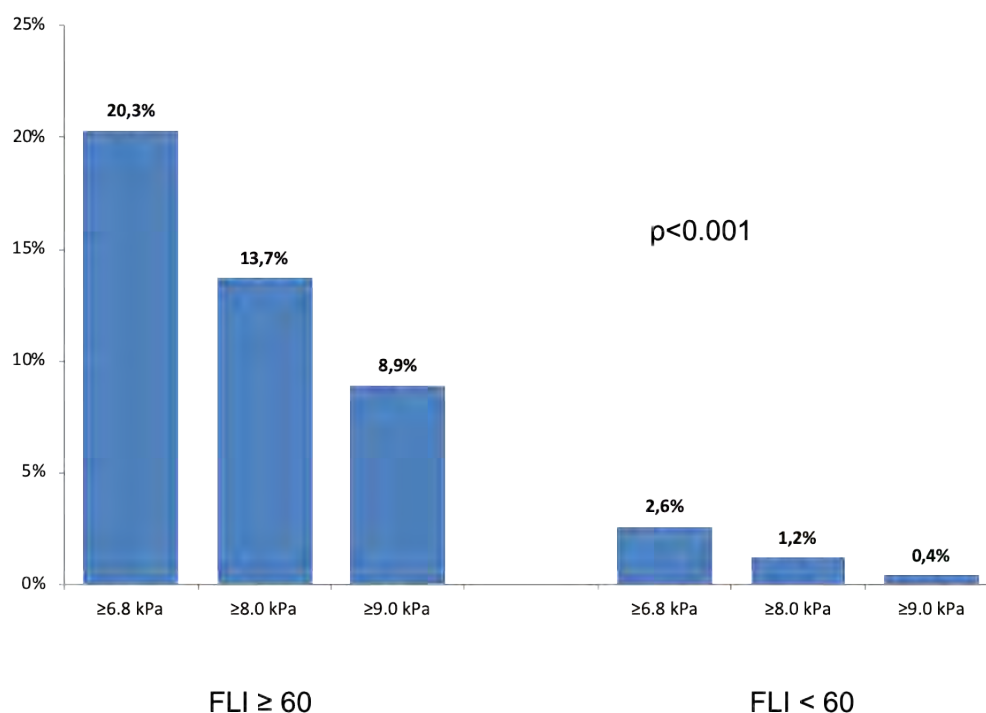


Figura 22. Relació entre FLI i EH.

### 1.3. Biòpsia hepàtica

Tal com s'ha detallat prèviament a la metodologia, els subjectes amb una elastografia  $\geq 6,8$  kPa o bé amb una ALT  $> 80$  U/L es derivaven als hospitals de referència amb la finalitat d'obtenir la confirmació diagnòstica, a ser possible mitjançant la biòpsia hepàtica, per tal d'observar la correlació entre el resultat de l'EH i l'examen histològic. En total van ser 300 els subjectes que s'haurien d'haver derivat als hospitals. D'aquests, finalment van acceptar prosseguir l'estudi a nivell hospitalari 179 subjectes. La resta, després de les explicacions oportunes en relació a la necessitat de realitzar la biòpsia hepàtica i, després d'explicar a consciència la tècnica, van desestimar la pràctica de la mateixa. Els 179 participants, que es van derivar van ser programats per a la realització de la biòpsia, després de les explicacions dels especialistes i d'aclarir-los tots els dubtes que van plantejar. A més, en alguns casos es van completar els estudis analítics. Tot i



estar programats i amb data prevista per a la realització de la biòpsia hepàtica, finalment aquesta es va realitzar en 92 subjectes, 63 a l'Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona i 29 a l'Hospital Clínic de Barcelona, representant el 31% del total de la mostra susceptible de ser biopsiada.

Segons el resultat histològic dels 92 subjectes biopsiats, 81 presentaven un FGNA, 7 una malaltia hepàtica alcohòlica i 4 un fetge histològicament normal.

Per determinar el grau de fibrosi es va tenir en compte l'escala METAVIR, que com ja s'ha descrit anteriorment, presenta quatre graus que van del F0 amb absència de fibrosi a F4 presència de cirrosi hepàtica.

La mitjana elastogràfica dels pacients a qui se'ls hi va practicar la biòpsia hepàtica va ser superior ( $10,1 \pm 5,3$  kPa,  $p < 0,001$ ) en comparació amb aquells pacients a qui no se'ls hi va programar la biòpsia ( $4,7 \pm 1,6$  kPa,  $p < 0,001$ ), inclús en aquells a qui se'ls hi va programar la biòpsia però que finalment no se la van fer ( $8,8 \pm 2,3$  kPa,  $p < 0,001$ ).

Com es mostra a la taula 15, l'EH és més elevada a mesura que augmenta el grau de fibrosi en la biòpsia hepàtica. Com es pot observar, els subjectes amb un estadi F0-F1 presentaven una mitjana de l'EH de  $8,4 \pm 1,9$  kPa; F2  $10,7 \pm 1,5$  kPa; F3  $14,2 \pm 1,6$  kPa i F4  $30,8 \pm 10,8$  kPa ( $p < 0,001$ ). No obstant això, es pot observar com aquells pacients amb absència de fibrosi o amb un grau moderat presenten un valor de l'EH superior a l'esperat. Això pot ser degut probablement a l'efecte de l'acumulació important del greix en aquests pacients.

Taula 15. Valors de l'EH segons el grau de fibrosi.

Estadi de fibrosi	Elastografia hepàtica (kPa)					p
	n	mitjana	DE	Min	Max	
<b>F0-F1</b>	64	8,4	1,9	3,5	14,3	<0,001
<b>F2</b>	21	10,7	1,5	6,9	13,9	
<b>F3</b>	3	14,2	1,6	12,8	16	
<b>F4</b>	4	30,8	10,8	21,3	46,4	

A la taula 16, es descriuen les característiques clíniques, analítiques, comorbiditats i valors elastogràfics dels pacients biopsiats segons l'absència de fibrosi (F0-F1) respecte als pacients amb fibrosi (F2-F4).

Taula 16. Característiques dels subjectes biopsiats segons el grau de fibrosi.

	Grau de fibrosi		
	F0-F1 (n=64)	F2-F4 (n=28)	
	n(%) o mitjana(DE)	n(%) o mitjana(DE)	p
<b>Sexe masculí</b>	44 (69)	20 (71)	0,797
<b>Edat</b>	57 ± 9	60 ± 8	0,081
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	33 ± 5	33 ± 5	0,999
<b>Sobrepès (≥25 - &lt;30 kg/m<sup>2</sup>)</b>	15 (23)	9 (32)	0,382
<b>Obesitat (≥30 kg/m<sup>2</sup>)</b>	46 (72)	19 (68)	
<b>Obesitat abdominal<sup>a</sup></b>	49 (77)	24 (89)	0,178
<b>Obesitat abdominal (homes)</b>	33 (75)	16 (84)	0,420
<b>Obesitat abdominal (dones)</b>	16 (80)	8 (100)	0,172
<b>Consum de risc d'alcohol</b>	8 (13)	5 (18)	0,497
<b>Hipertensió arterial</b>	23 (36)	13 (46)	0,343
<b>Diabetis mellitus tipus 2</b>	12 (19)	12 (43)	0,015
<b>Hipercolesterolèmia</b>	35 (55)	15 (54)	0,921
<b>Hipertrigliceridèmia</b>	14 (22)	8 (29)	0,488
<b>Síndrome Metabòlica (NCEP-ATPIII)</b>	64 (100)	27 (96)	0,816
<b>Glicèmia (&gt;100 mg/dl)</b>	116 (47)	119 (32)	0,816
<b>HbA1c (&gt;6,0 %)</b>	6,0 (0,9)	6,0 (0,8)	0,742
<b>Colesterol total (&gt;200mg/dl)</b>	220 (34)	195 (36)	0,002
<b>HDL (&lt;50mg/dl dones i &lt;40mg/dl en homes)</b>	49 (11)	47 (9)	0,425
<b>LDL (&gt;130 mg/dl)</b>	137 (38)	116 (31)	0,009
<b>Triglicèrids (&gt;150 mg/dl)</b>	191 (125)	172 (82)	0,445
<b>AST (&gt;40 U/L)</b>	30 (16)	39 (30)	0,082
<b>ALT (&gt;40 U/L)</b>	37 (26)	41 (25)	0,504
<b>AST i/o ALT&gt;40 U/L</b>	17 (27)	10 (36)	0,400
<b>GGT (&gt;40U/L) (mitjana, IQRb)</b>	39 (36)	53 (38)	0,026
<b>HBsAg (n, %)</b>	0 (0)	0 (0)	1,000
<b>Anti VHC (n, %)</b>	0 (0)	0 (0)	1,000
<b>Elastografia (kPa)</b>	8,4 (1,9)	13,9 (8,1)	<0,001
<b>≥ 6,8</b>	60 (94)	28 (100)	0,176
<b>≥ 8,0</b>	33 (52)	27 (96)	<0,001
<b>≥ 9,0</b>	18 (28)	26 (93)	<0,001
<b>FLI</b>			0,240
<b>&lt;30</b>	6 (10)	0 (0)	
<b>30-60</b>	3 (5)	1 (4)	
<b>≥ 60</b>	54 (86)	26 (96)	

<sup>a</sup>Circumferència de cintura (≥102 cm homes, ≥88 cm dones). <sup>b</sup>Rang interquartilic.

Únicament hi va haver diferències significatives entre els pacients amb fibrosi respecte als que no tenien fibrosi en relació a la DM2 (19% contra un 43%, respectivament; p=0,015), i entre el colesterol total i els valors de la LDL. Com era d'esperar els valors

elastogràfics van ser significativament més alts entre els pacients amb un grau de fibrosi F2-F4.

Si s'exclouen els subjectes amb biòpsies compatibles amb patologia alcohòlica, les mitjanes elastogràfiques augmenten lleugerament, si bé, de forma significativa en F1 (8,1±1,6) i F4 (31,7±13,1), p<0,001.

### 1.3.1. Estadi de fibrosi segons el valor de l'elastografia.

A la taula 17, es mostren els diferents punts de tall elastogràfics, i el grau de fibrosi hepàtica segons l'escala METAVIR.

Taula 17. Diferents punts de tall elastogràfics i grau de fibrosi

	≥6,8 kPa			≥8,0kPa			≥9,0 kPa		
	<6,8 kPa	≥6,8 kPa	p	<8,0 kPa	≥8,0 kPa	p	<9,0 kPa	≥9,0 kPa	p
<b>Fibrosis</b>			0,719			<0,001			<0,001
<b>F0</b>	3 75%	48 55%		24 75%	27 45%		35 73%	16 36%	
<b>F1</b>	1 25%	12 14%		7 22%	6 10%		11 23%	2 5%	
<b>F2</b>	0 0%	21 24%		1 5%	20 33%		2 4%	19 43%	
<b>F3-F4</b>	0 0%	7 8%		0 0%	7 12%		0 0%	7 16%	

La línia negra divideix els pacients que presenten un grau de fibrosi significativa, és a dir a partir d'un estadi F2.

Així, amb el punt de tall de 6,8 kPa l'elastografia classificava correctament el 32% dels pacients, és a dir 28 de 88 pacients (p=0,719). Amb el punt de tall 8,0 kPa classificava correctament el 45% dels pacients, 27 de 60 (p<0,001). I amb el punt de tall de 9,0 kPa classificava correctament al 59% dels subjectes, 26 de 44 (p <0,001).

Tenint en compte tots els malalts biopsiats, amb el punt de tall 6,8 kPa classifica bé els 28 fibrosats i els 4 que diu que no tenen fibrosi (concordança global = 32/92 = 35%) amb una S=100%; E=6%; VPP= 32% i VPN =100%. Amb el punt de tall 8 kPa classifica bé els 27 fibrosats i els 31 que diu que no tenen fibrosi (concordança global 58/92 = 63%) amb una S=96%; E=48%; VPP=45%; VPN=97% i amb el punt de tall 9 kPa classifica bé els 26 fibrosats i els 46 que diu que no tenen fibrosi (concordança global =72/92 = 78%) amb una S=93%; E=72%; VPP=59%; VPN = 96% (figura 23).

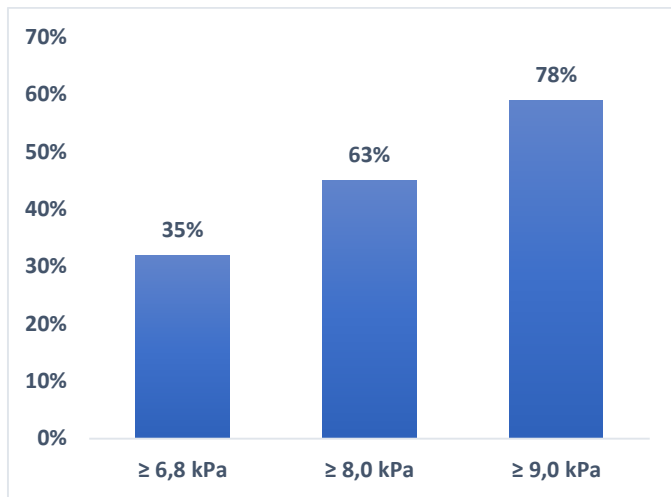


Figura 23. Percentatge de subjectes classificats correctament per EH segons el grau de fibrosi histològic.

Nomès 2 de 48 subjectes (4,1%) amb elastografia < 9.0 kPa tenia fibrosi significativa.

Tot i haver preestablert els diferents punts de tall estudiats fins ara, es va voler saber quin era el millor punt de tall de l'EH en la present sèrie per al diagnòstic de fibrosi hepàtica.

Com es pot observar a la figura 24 el millor punt de tall va ser de 9,2 kPa amb un valor per sota de la corba ROC del 0,87, amb una sensibilitat del 93% i especificitat del 78%, de manera que amb aquest punt de tall es classificaven correctament el 83% dels pacients. (Figura 24).

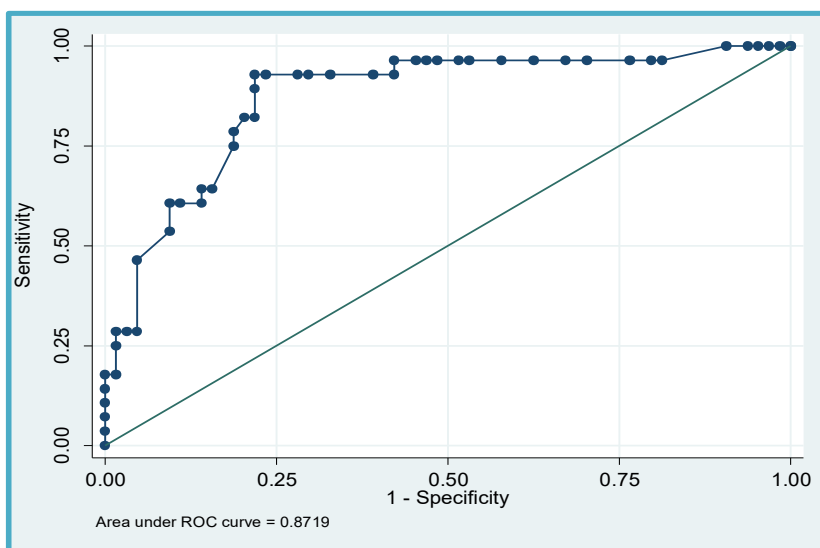


Figura 24. Corba ROC d'EH i fibrosi punt de tall 9,2 kPa

A continuació, a la taula 18, es comparen la sensibilitat, especificitat i la capacitat diagnòstica dels diferents punts de tall.

Taula 18. Sensibilitat (S) i especificitat (E) dels diferents punts de tall

Punts de tall	S	E	%
<b>6,8 kPa</b>	100	6	32
<b>8,0 kPa</b>	96	47	60
<b>9,0 kPa</b>	93	72	72
<b>9,2 kPa</b>	91	77	82

Quan vam incloure el punt de tall de 9,2 kPa, en els resultats de la taula anterior (taula 17), es pot observar que amb aquest punt es classifica correctament el 65% dels pacients, 26 de 40 ( $p < 0,001$ ) (taula 19 i figura 25).

Taula 19. Diferents punts de tall elastogràfics i grau de fibrosi

	≥6,8 kPa			≥8,0 kPa			≥9,0 kPa			≥9,2 kPa		
	<6,8 kPa	≥6,8 kPa	p	<8,0 kPa	≥8,0 kPa	p	<9,0 kPa	≥9,0 kPa	p	<9,2 kPa	≥9,2kPa	p
<b>Fibrosi</b>	0,719			<0,001			<0,001			<0,001		
<b>F0</b>	3 75%	48 55%		24 75%	27 45%		35 73%	16 36%		39 75%	12 30%	
<b>F1</b>	1 25%	12 14%		7 22%	6 10%		11 23%	2 5%		11 21%	2 5%	
<b>F2</b>	0 0%	<b>21 24%</b>		1 3%	<b>20 33%</b>		2 4%	19 <b>43%</b>		2 4%	<b>19 48%</b>	
<b>F3-F4</b>	0 0%	7 8%		0 0%	7 12%		0 0%	7 <b>16%</b>		0 0%	7 <b>18%</b>	

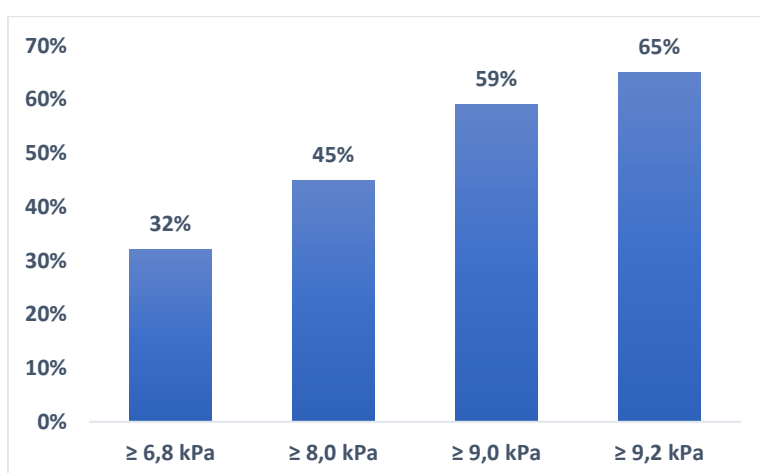


Figura 25. Percentatge de subjectes amb EH positiva que tenen realment fibrosi segons la biòpsia hepàtica (valor predictiu positiu).

Si s'exclouen aquells subjectes amb hepatopatia alcohòlica, s'observa una disminució de percentatges de subjectes amb fibrosi. Així amb el punt de tall  $\geq 6,8$  kPa el percentatge va ser del 31%,  $\geq 8,0$  kPa del 42%,  $\geq 9,0$  kPa del 57% i  $\geq 9,2$  kPa del 64%.

#### 1.4. Marcadors serològics de fibrosi

Per al diagnòstic de fibrosi mitjançant els marcadors serològics, es van utilitzar els índexs NFS i el FIB-4.

##### 1.4.1. NAFLD Fibrosis Score:

- 1.699 subjectes (62,3%) van presentar uns valors de  $< -1,455$  predictor d'absència de fibrosi significativa.
- 975 subjectes (35,8%) van presentar uns valors de  $> -1,455$  i  $< 0,676$  catalogats com indeterminats.
- 53 subjectes (1,9%) van presentar uns valors de  $> 0,676$  predictors de presència de fibrosi significativa.

En relació al valor de l'EH en els diferents nivells del NFS, tal com s'observa a la taula 20, es pot veure que, quan el NFS identifica la presència de fibrosi significativa, el valor elastogràfic és més alt i quan l'índex diagnostica absència de fibrosi el valor elastogràfic és més baix, sent tots aquests valors estadísticament significatius ( $p < 0,001$ ).

Taula 20. NFS i valors elastogràfics

NFS	n	Mitjana EH	DE
$< -1,455$	1.699	4,7	1,7
$> -1,455$ i $\leq 0,676$	975	5,3	2,1
$> 0,676$	53	8,5	7,4

A la taula 21 es mostren els percentatges de pacients que presenten alteració del NFS segons el punt de tall elastogràfic. Així, un valor de NFS  $< -1,455$ , va estar present en el 40,7%, 36,8% i 30,2% dels subjectes segons els diferents punts de tall. Per contra, un valor de NFS  $> 0,676$  va ser present al 9% dels subjectes en els punts de tall de 6,8 kPa i 8,0 kPa, respectivament i en el 12% en el punt de tall de 9,0 kPa. Tots aquests percentatges van presentar significació estadística  $p < 0,001$  (taula 21).

Taula 21. NFS segons els diferents punts de tall elastogràfics

NFS	Elastografia hepàtica					
	≥6,8 kPa (n=241)		≥8,0 kPa (n=155)		≥9,0 kPa (n=96)	
	n (%)	P	n (%)	p	n (%)	p
< -1,455	98 (40,7)	<0,001	57 (36,8)	<0,001	29 (30,2)	<0,001
>-1,455 y ≤ 0,676	121 (50,2)		84 (54,2)		55 (57,3)	
> 0,676	22 (9,1)		14 (9,0)		12 (12,5)	

#### 1.4.2. Índex FIB-4

- 1.784 subjectes (64,3%) van presentar uns valors de <1,30 predictor d'absència de fibrosi significativa.
- 940 subjectes (33,9%) van presentar uns valors de ≥1,30 i <2,67 catalogats com indeterminats.
- 52 subjectes (1,9%) van presentar uns valors de ≥2,67 predictors de presència de fibrosi significativa.

A la taula 22, es mostra la correlació entre el FIB-4 i la mitjana de l'elastografia. De manera que quan el FIB-4 identifica la presència de fibrosi significativa, el valor elastogràfic és més alt i quan el FIB-4 diagnostica absència de fibrosi el valor elastogràfic és més baix, sent aquests valors estadísticament significatius ( $p < 0,001$ ).

Taula 22. FIB-4 i valors elastogràfics

FIB 4	N	Mitjana	DE
< 1,30	1784	4,8	1,7
≥ 1,30 y < 2,67	940	5,1	2,3
≥ 2,67	52	6,9	7,2

A la taula 23, es mostren els percentatges de pacients que presenten alteració del FIB-4 segons el punt de tall elastogràfic predeterminat. Així, un valor de FIB-4 <1,30 va ser present al 59,0%, 58,8% i 54,6% dels subjectes segons els diferents punts de tall i el FIB-4 >2,67 el van presentar un 4,0%, 4,4% i 5,1%.

Taula 23. FIB-4 segons els diferents punts de tall elastogràfics

	Elastografia hepàtica					
	≥6,8 kPa (n=251)		≥8,0 kPa (n=160)		≥9,0 kPa (n=99)	
FIB - 4	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p
<1,30	148 (59,0)	0,014	94 (58,8)	0,074	54 (54,6)	0,015
>1,30 y < 2,67	93 (37,1)		59 (36,9)		40 (40,4)	
>2,67	10 (4)		7 (4,4)		5 (5,1)	

#### 1.4.3. Capacitat predictiva de l'elastografia hepàtica, NFS, FIB-4 i ALT segons la severitat de la fibrosi hepàtica (F0 - F1 vs F2 - F4).

Tal com s'ha descrit en la metodologia, es va estudiar la correlació entre l'EH i els marcadors serològics en relació a la presència de fibrosi significativa. A la taula 24 es mostra que els valors de les mitjanes i desviació estàndard del NFS va estar més elevat en relació a l'estadi de fibrosi, sent aquestes diferències estadísticament significatives.

Taula 24. Mitjanes del NFS segons el grau de fibrosi hepàtica

Grau de fibrosi	n	Mitjana (DE)	p
F0	49	-1,45 (1,19)	0,004
F1	12	-1,23 (1,53)	0,004
F2	20	-0,73 (1,20)	0,004
F3-F4	5	0,58 (1,29)	0,004

D'altra banda, al comparar l'estadi de fibrosi amb els valors obtinguts del FIB-4 observem, tal com es mostra a la taula 25, que els valors de les mitjanes i desviació estàndard del FIB-4, van ser més elevats especialment en els estadis F3-F4, sent aquestes diferències estadísticament significatives ( $p < 0,001$ ).

Taula 25. Mitjanes del FIB-4 segons el grau de fibrosi hepàtica

Grado de fibrosis	n	Media (DE)	p
F0	50	1,27 (0,53)	<0,001
F1	12	1,40 (0,90)	
F2	20	1,69 (0,80)	
F3-F4	6	3,50 (3,07)	



Finalment, es va voler conèixer quina era la capacitat predictiva de fibrosi hepàtica, tant de l'EH com dels diferents marcadors serològics, i com es pot observar a la figura 26, la capacitat predictiva de l'EH va ser significativament superior, amb un valor sota de la corba de 0,86, en relació amb NFS a un valor de 0,71 ( $p = 0,033$ ), el FIB-4 amb un valor de 0,71 ( $p = 0,039$ ) i l'ALT amb un valor de 0,55 ( $p < 0,001$ ) (Figura 26).

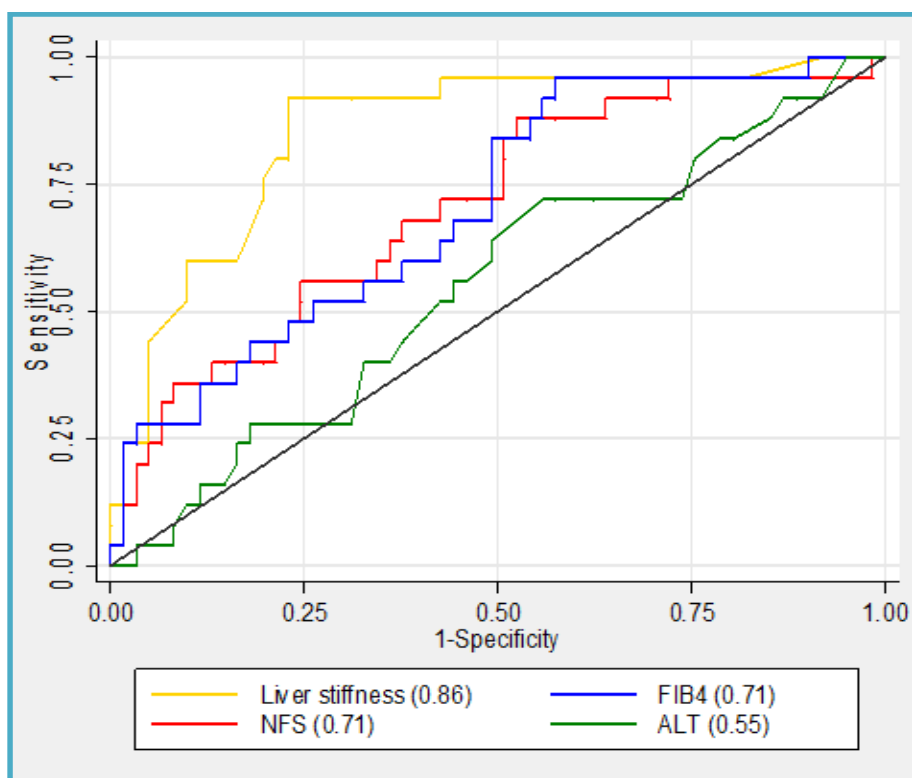


Figura 26. Corbes ROC per fibrosi de l'EH, NFS, FIB-4 i ALT

#### 1.4.4. Factors de risc i alteració elastogràfica.

Els factors de risc associats a l'alteració elastogràfica van ser l'obesitat, DM2, hiperlipidèmia, HTA, SM, transaminases i consum de risc d'alcohol. A la taula 26 es mostra com a major nombre de factors de risc, major es el valor d'alteració elastogràfica. Així, es va poder observar, com en els subjectes sense factors de risc la mitjana elastogràfica va ser  $4,1 \pm 1,3$  kPa i en aquells subjectes que van presentar 7 factors de risc la mitjana elastogràfica va augmentar a  $10,8 \pm 5,4$  kPa.

Taula 26. Valors elastogràfics segons els factors de risc.

Factors de risc*	n	mitjana	DE
<b>0</b>	147	4,1	1,3
<b>1</b>	801	4,4	1,2
<b>2</b>	648	4,8	1,5
<b>3</b>	462	5,2	2,2
<b>4</b>	292	5,9	2,5
<b>5</b>	156	6,7	2,4
<b>6</b>	57	8,6	6,6
<b>7</b>	15	10,8	5,4



## 2. DISSENY I VALIDACIÓ D'UN ALGORISME DIAGNÒSTIC DE FIBROSI HEPÀTICA A LA POBLACIÓ GENERAL.

En els resultats anteriors s'ha descrit l'estreta relació entre el FLI i l'EH. De manera que la prevalença de l'augment de l'elastografia en pacients amb esteatosi severa ( $FLI \geq 60$ ) va ser del 20,3%, 13,7% i 8,9% segons els punts de tall de 6,8, 8,0 i 9,0 kPa, respectivament. Per contra, la prevalença d'alteració de l'elastografia en subjectes amb un valor de  $FLI < 60$  va ser del 2,6%, 1,2% i 0,4% segons els punts de tall de 6,8, 8,0 i 9,0, respectivament ( $p < 0,001$ ).

Per aquest motiu, es va voler correlacionar el FLI amb els marcadors serològics de fibrosi estudiats (NFS i FIB-4), així com amb l'ALT i l'EH de 9,2 kPa.

Com es pot observar a la figura 27, FLI es va correlacionar significativament amb un valor sota de la corba de 0,83 en relació a NFS, FIB-4 i ALT amb uns valors sota de la corba de 0,70, 0,62 i 0,69, respectivament ( $p < 0,001$ ). A més, com es pot observar a la taula 27, FLI va tenir el VPN més elevat respecte a la resta dels marcadors amb un valor de 99,7%.

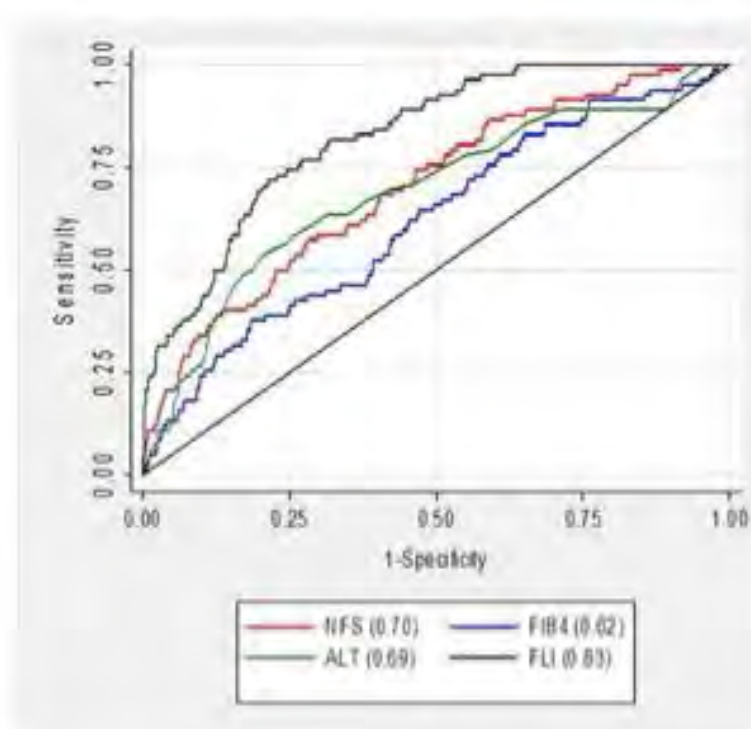


Figura 27. Comparació dels valors de les corbes ROC dels diferents marcadors en relació a l'EH de 9,2 kPa

Taula 27. Percentatge de pacients amb EH  $\geq 9,2$  kPa

		<9,2 kPa	$\geq 9,2$ kPa				
				S	E	VPP	VPN
<b>NFS</b>	Baix	774	21				
	Mitjà-alt	721	63	75%	52%	8%	97%
<b>FIB4</b>	Baix	943	45				
	Mitjà-alt	578	42	48%	62%	7%	95%
<b>FLI</b>	Baix	628	2				
	Mitjà-alt	919	87	98%	41%	9%	99,7%
<b>AST/ALT</b>	$\leq 40$	1430	66				
	$> 40$	160	27	29%	90%	14%	96%

Amb aquests resultats es va voler dissenyar un algorisme diagnòstic de fibrosi hepàtica en la població general que fos útil a les consultes d'atenció primària, utilitzant l'EH i els marcadors serològics com a mètodes de detecció.

Primer es va analitzar la prevalença de fibrosi hepàtica significativa en subjectes classificats segons la presència o absència de factors de risc per a la fibrosi hepàtica (obesitat, diabetis tipus 2, hiperlipidèmia, hipertensió arterial, síndrome metabòlica o consum de risc d'alcohol). El 57.9% dels subjectes tenien 1 o més factors de risc. El nivell de tall utilitzat de elastografia va ser de 9,2 kPa perquè aquest valor tenia la precisió predictiva més alta per a la fibrosi hepàtica significativa, amb un VPN molt alt (96%) i un VPP raonablement alt (64%). La prevalença de EH  $\geq 9.2$  kPa en pacients sense factors de risc va ser només del 0.4%, comparat amb el 5.0% en pacients amb 1 o més factors de risc ( $p < 0.001$ ).

En base als diferents factors de risc de fibrosi hepàtica, tenint en compte el valor de l'EH de 9,2 kPa i donat que des de l'atenció primària es poden aplicar els marcadors serològics de fibrosi, es van dissenyar diversos models d'algorismes i valorar quin d'ells orienta millor el diagnòstic de fibrosi significativa, i si es poden aplicar a la pràctica clínica habitual d'atenció primària.

Els diferents models d'algorismes es van dissenyar mitjançant 3 passos. El primer pas va consistir en l'avaluació dels factors de risc de fibrosi hepàtica (síndrome metabòlica o algun dels seus components i consum de risc d'alcohol). El segon pas consistia en el càlcul dels marcadors serològics de fibrosi (NFS, FIB-4), així com el FLI vista l'estreta relació amb l'elastografia, en subjectes amb factors de risc. El tercer pas seria la realització de l'EH.

A continuació es mostren els diferents models emprats.

## 2.1. Model d'algorisme utilitzant el marcador NFS.

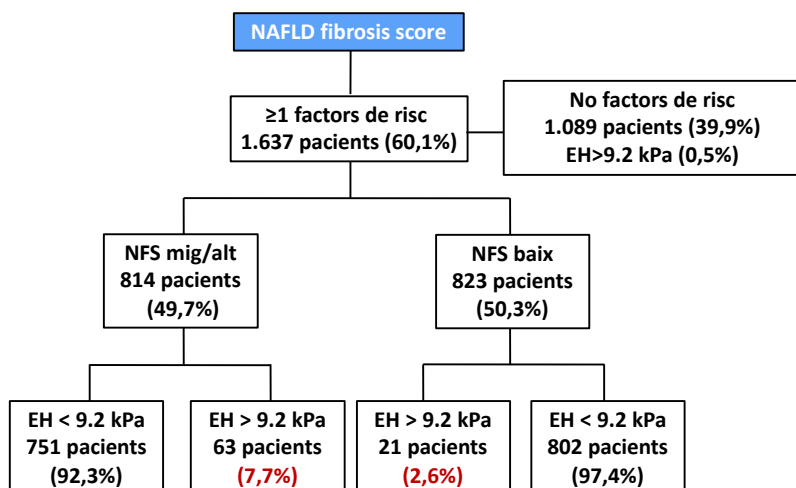


Figura 28. Algorisme de diagnòstic de fibrosi segons el NFS

Usant el NFS en els subjectes amb un o més factors de risc un 49,7% presenten un valor mitjà-alt del marcador i d'aquests, quan se'ls hi realitza l'EH, 63 pacients (7,7%) tenen un valor per sobre de 9,2 kPa. Per contra els que tenen un NFS baix, 11 pacients, (2,6%) tenen una EH superior a 9,2 kPa.

És de destacar que en els subjectes sense factors de risc (39,9%) només el 0,5% tenen un valor elastogràfic per sobre de 9,2 kPa.

## 2.2. Model d'algorisme utilitzant el marcador FIB-4.

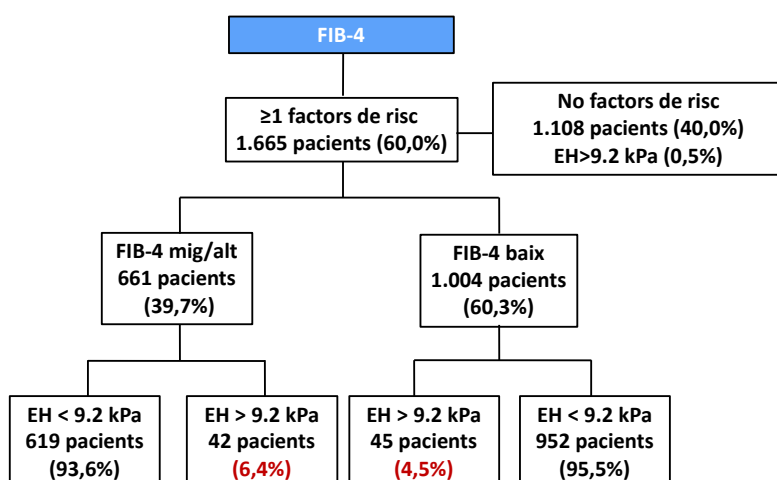


Figura 29. Algorisme de diagnòstic de fibrosi segons el FIB-4.

En aquest model al igual que l'anterior, el grup sense factors de risc van presentar el mateix percentatge de pacients amb EH per sobre de 9,2 kPa. Per contra, amb aquest marcadore detectem un percentatge més baix de subjectes amb probable fibrosi (39,7%) i d'aquests 42 pacients (6,4%) tenien un valor de l'EH per sobre de 9,2 kPa. Dels subjectes amb un FIB-4 baix, en 45 pacients (4,5%) tenien un valor de l'EH per sobre de 9,2 kPa.

De la mateixa manera que en l'algorisme del NFS, els subjectes sense factors de risc (40,0%) només el 0,5% tenen un valor elastogràfic per sobre de 9,2 kPa.

### 2.3. Model d'algorisme utilitzant el marcadore Fatty Liver Index.

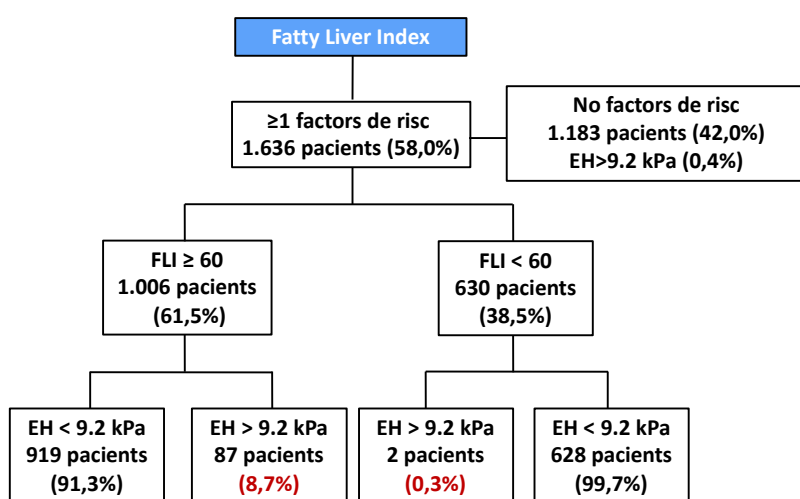


Figura 30. Algorisme de diagnòstic de fibrosi segons el FLI.

Amb el FLI, igual que en els models anteriors, aquells subjectes sense factors de risc presenten un percentatge similar de pacients (0,4%) amb elastografia per sobre de 9,2 kPa.

Els pacients amb factors de risc i el FLI per sobre de 60 va detectar fibrosi significativa amb un valor de l'EH per sobre de 9,2 kPa, en 87 pacients (8,7%). Una dada interessant utilitzant el FLI és que, d'aquells que tenen un FLI<60 solament 2 pacients (0,3%) presenten un valor de l'EH per sobre de 9,2 kPa. Aquest resultat és molt important, ja que amb el FLI baix pràcticament no detectes cap pacient amb fibrosi mentre que amb el FLI alt detectes dos tercers parts dels pacients amb fibrosi i per tant serien els que s'haurien de derivar des de l'atenció primària a la medicina especialitzada.

De l'anàlisi dels 3 models cal destacar que en els subjectes sense factors de risc no és necessari fer el cribratge, ja que tenen un risc molt baix de fibrosi hepàtica.

De tots 3 marcadors el millor és el FLI ja que és el que detecta un major nombre de pacients amb fibrosi significativa i també és el que descarta millor la presència de fibrosi si no hi ha un FLI>60.

En base aquests resultats, es va desenvolupar un algorisme de 3 passos per a la detecció de fibrosi hepàtica. El primer pas consisteix en l'avaluació dels factors de risc de fibrosi hepàtica (síndrome metabòlica o els seus components i consum de risc d'alcohol). Els subjectes sense factors de risc, com s'ha pogut observar, no s'han de sotmetre a proves de detecció a causa d'un risc molt baix de fibrosi hepàtica. El segon pas consisteix en el càlcul dels marcadors de fibrosi en subjectes amb factors de risc. Els pacients amb un valor de FLI inferior a 60, NFS i FIB-4 baix tampoc han de ser examinats ja que tenen un risc molt baix de fibrosi hepàtica. Finalment, en el tercer pas, s'ha de realitzar una EH en subjectes amb factors de risc i FLI  $\geq$ 60, NFS i FIB-4 mitjà-alt. De manera que la prevalença de EH  $\geq$ 9.2 kPa en aquests grups d'alt risc va ser de 8.7%, 7.7% i 6.4% per els marcadors FLI, NFS i FIB-4, respectivament. Amb aquest enfocament, aproximadament dos terços de la població de 18 a 75 anys no requeririen proves de detecció de fibrosi hepàtica. El rendiment de l'algorisme va ser el mateix en subjectes de 45 a 75 anys i si s'excloïen els subjectes amb consum de risc d'alcohol.

Dels 3 escenaris analitzats el model d'algorisme del FLI és el que discrimina millor la presència de fibrosi hepàtica.

Després d'aquest anàlisi mitjançant l'estudi dels 3 marcadors, s'ha fet la proposta de disseny d'un algorisme de detecció de fibrosi hepàtica significativa en la població general a les consultes d'atenció primària, per tal de detectar aquells pacients que poden tenir una inflamació hepàtica i no ho saben i poder-los adreçar a l'especialista. No cal dir que és una proposta fàcil d'aplicar, malgrat l'inconvenient de no disposar d'aparell d'elastografia a la primària.

Per tant, la proposta final d'algorisme és la que mostro a la figura 31 i es basa en l'estudi i aplicació del mateix en 3 passos. El primer pas consisteix en l'avaluació dels factors de risc metabòlics i de consum de risc d'alcohol. El segon pas calcular l'índex FLI. El tercer pas realitzar una EH. Això permetria fer una estimació dels malalts que s'haurien de derivar al nivell especialitzat o bé continuar essent controlats des de les consultes d'atenció primària.



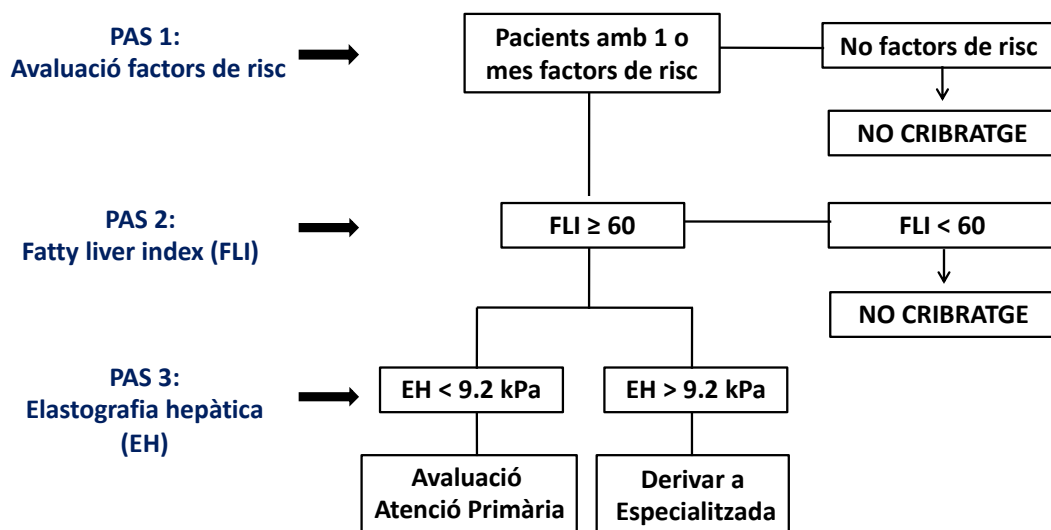


Figura 31. Algorisme proposat pel diagnòstic de fibrosi en la població general.

En base aquests resultats i amb l'aplicació de l'algorisme en l'actual cohort es va calcular el percentatge de subjectes que s'haurien de derivar des de l'atenció primària a la medicina especialitzada, tal i com es mostra en la figura 32.

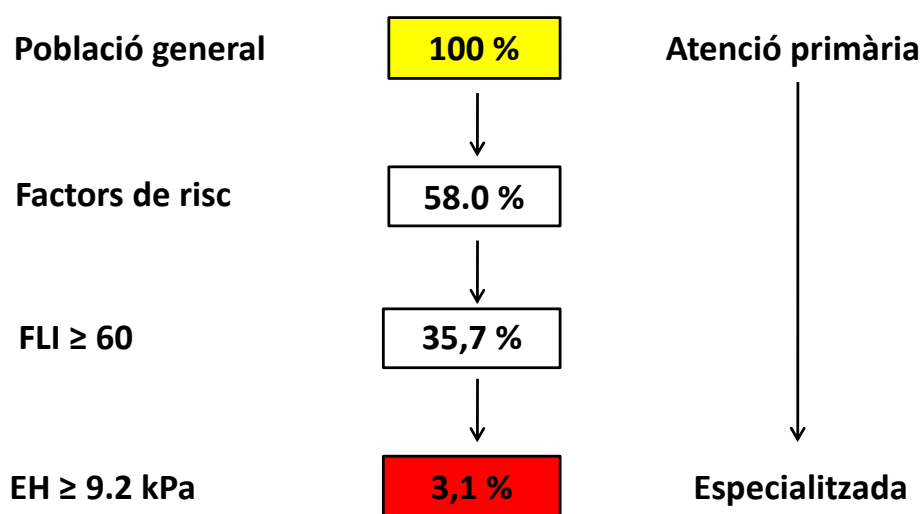


Figura 32. Percentatge de diagnòstic de fibrosi aplicant l'algorisme.

## **2.4. Validació de l'algorisme**

Un cop obtinguda la proposta d'algorisme es va dur a terme un estudi de validació del mateix. Aquest punt és molt important ja que, com s'ha dit abans, una de les màximes preocupacions és la de tenir eines per fer el diagnòstic precoç de les malalties hepàtiques cròniques i la presència de fibrosi hepàtica, des de l'atenció primària. Els professionals d'aquest nivell assistencial són els primers a detectar alteracions de les proves de funció hepàtica o bé alteracions de les proves d'imatge, en especial l'ecografia abdominal. A més són els primers que diagnostiquen i controlen les alteracions metabòliques.

De la mateixa manera que a l'estudi original, es van incloure subjectes procedents dels mateixos 16 Equips d'Atenció Primària de les comarques del Barcelonès Nord i Maresme.

El treball de camp de l'estudi es va iniciar el juny de 2018 i va finalitzar el juliol de 2020.

El procediment que es va seguir per obtenir la mostra, així com l'obtenció de les dades va ser el mateix que en la mostra original. Finalment es van incloure un total de 3.304 subjectes.

### **2.4.1. Característiques basals de la mostra**

Les característiques basals, sociodemogràfiques, clíniques i de comorbiditats, del total dels 3.304 subjectes participants es mostren a la taula 28 i es comparen amb la mostra original. Finalment de la mostra original el nombre de subjectes participants va ser de 1.579, un cop exclosos els subjectes amb edat inferior als 40 anys i que no tinguessin almenys un factors de risc.

Taula 28. Característiques basals de la mostra de l'estudi de validació.

Marcadors	Mostra original			Mostra validació		
N	1.579			3.304		
Edat*	58 ± 9	40	75	58 ± 10	40	75
Homes (%)	42			47		
Obesitat (%)	34			29		
Diabetis tipus 2 (%)	12			12		
Triglicèrids (%)	26			22		
Hipertensió arterial (%)	30			34		
Síndrome metabòlica (%)	24			23		
Bevedors de risc (%)	9,9			9,9		
Factors de risc*	1,4 ± 1,4	0	6	1,3 ± 1,4	0	6
1 o més factors de risc (%)	64,3			61,6		
Elastografia hepàtica*	5,0 ± 2,3	2,0	46,4	5,0 ± 2,6	1,5	70,4
Elastografia ≥ 9,2 kPa (%)	3,7			2,6		
Fatty Liver Index (FLI)*	51 ± 29	1	100	49 ± 30	1	100
FLI ≥ 60 (%)	41			39		

\*Mitjana, DE, mínim i màxim. Obesitat: IMC≥30 kg/m<sup>2</sup>. Diabetis tipus 2 i hipertensió arterial segons història clínica. Síndrome metabòlica: segons els criteris de la NCEP-ATPIII. Bevedor de risc: ≥21 UBEs en els homes i ≥14 en les dones. Factors de risc: obesitat, diabetis tipus 2, hipertensió arterial, hipertriglicèridèmia, síndrome metabòlica i bevedor de risc.

En base a l'algorisme proposat es va fer la comparació entre les dues poblacions tal i com es mostra en els figures 33 i 34.

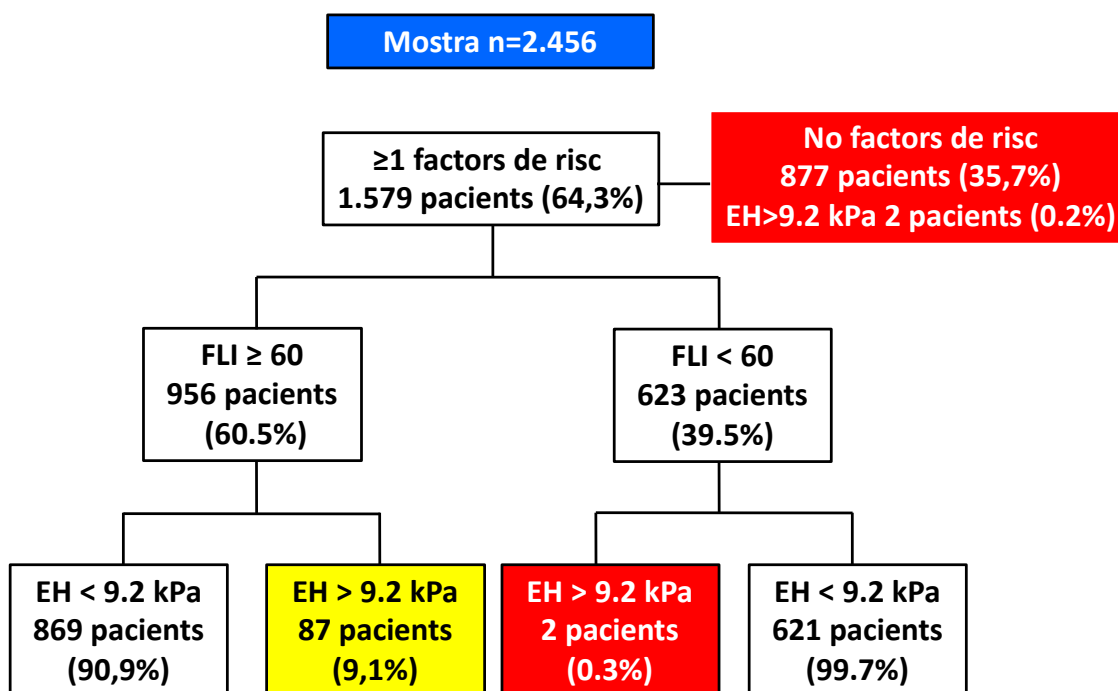


Figura 33. Algorisme de diagnòstic de fibrosi proposat. En color vermell es marquen els casos que no serien detectats amb l'aplicació de l'algorisme.

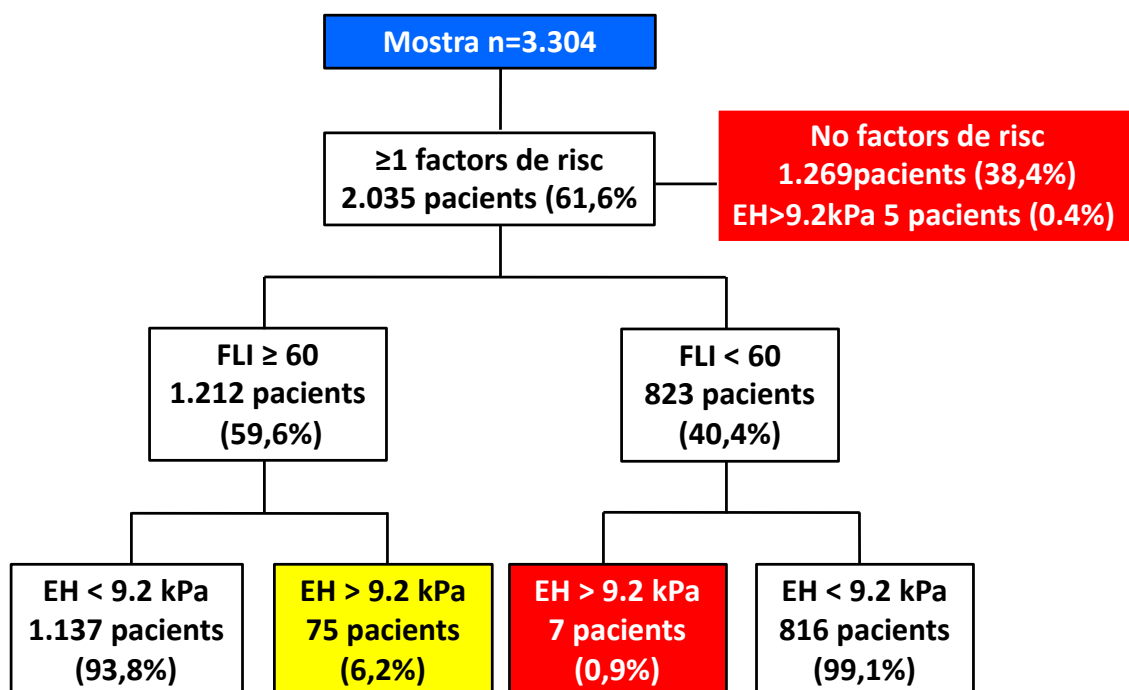


Figura 34. Validació de l'algorisme de diagnòstic de fibrosi. En color vermell es marquen els casos que no serien detectats amb l'aplicació de l'algorisme.

Amb l'aplicació de l'algorisme es diagnostica amb molta fiabilitat els pacients que presenten fibrosi significativa i per altra banda són molt pocs els pacients que deixariem de diagnosticar.

A continuació es mostren els percentatges de cadascuna de les cohorts, sobre el total de pacients.

Taula 29. Comparació en percentatge de l'aplicació dels diferents passos a les dues cohorts.

	Cohort original	Cohort validació
Pacients a qui es calcula el FLI perquè tenen un o més factors de risc (%)	64,3	61,6
Pacients que donen FLI + (es sol·licitarà elastografia) (%)	38,9	36,7
Pacients que tindran elastografia alterada i seran derivats a especialitzada (%)	3,5	2,3
Pacients amb elastografia alterada que no seran detectats (%)	0,2	0,4

El comportament de la cohort de validació és molt similar a l'original.

Interpretant els resultats es pot dir que per cada 1.000 pacients d'entre 40 i 75 anys amb almenys un factor de risc, s'hauria de fer elastografia a entre 367 i 389 pacients, obtenint

entre 23 i 35 positius que s'haurien de derivar a l'especialitzada. Entre 2 i 4 pacients amb fibrosi no serien detectats.

Tal com es mostra a la taula 30 es va voler estudiar la sensibilitat, especificitat, VPP i VPN dels algorismes entre els diferents factors de risc (1 o més) i  $FLI \geq 60$  vs  $EH \geq 9,2$  kPa.

Taula 30. Sensibilitat, especificitat, VPP i VPN entre les dues cohorts.

	Cohort original		Cohort validació	
	1 o mes FR i $FLI \geq 60$		1 o mes FR i $FLI \geq 60$	
$EH \geq 9,2$ kPa	No	Si	No	Si
No	1.496	869	2.080	1.137
Si	4	87	12	75
Sensibilitat	96%		86%	
Especificitat	63%		65%	
VPP	9%		6%	
VPN	99,7%		99,4%	

En la taula 31 es mostra la comparació entre les dues cohorts en relació amb els pacients amb factors de risc,  $FLI \geq 60$  i  $EH \geq 9,2$  kPa.

Tant les variables demogràfiques, com les clíniques i analítiques són molt similars entre les dues cohorts. Així com la presència de SM, FLI i l'EH.

Taula 31. Comparació entre les dues cohorts segons els passos de l'algorisme.

	Mostra original (n=87)		Mostra validació (n=75)	
	n / mitjana	% / DE	n / mitjana	% / DE
Edat*	61	8	61	9
Homes	28	32%	29	39%
Caucàsic	86	99%	68	91%
IMC	35	6	35	6
IMC ≥ 30	71	82%	60	80%
Obesitat abdominal	75	86%	63	84%
Pressió arterial sistòlica	136	17	139	16
Pressió arterial diastòlica	85	11	85	11
Bebedor de risc	16	18%	22	29%
Hipertensió arterial	47	54%	50	67%
Diabetis tipus 2	38	44%	40	53%
Hipercolesterolemia	49	56%	41	55%
Glicèmia	129	46	124	41
Hemoglobina glicosilada	6,5	1,2	7,1	5,5
Colesterol total	200	35	194	42
HDL	46	11	47	14
LDL	119	35	119	35
Triglicèrids	194	120	174	88
AST	31	13	37	23
ALT	36	20	41	29
GGT	69	91	114	136
Transaminases elevades	59	69%	51	68%
Síndrome metabòlica	68	78%	57	76%
Fatty Liver Index (FLI)	89	10	91	9
Elastografia hepàtica	13	6	15	11

En les següents figures (35-38) es mostra la distribució dels valors de l'EH en les dues cohorts. A més es mostra la distribució de l'EH de les dues cohorts juntes tant amb el total de la mostra com excloent els pacients amb elastografia superior a 20 kPa.

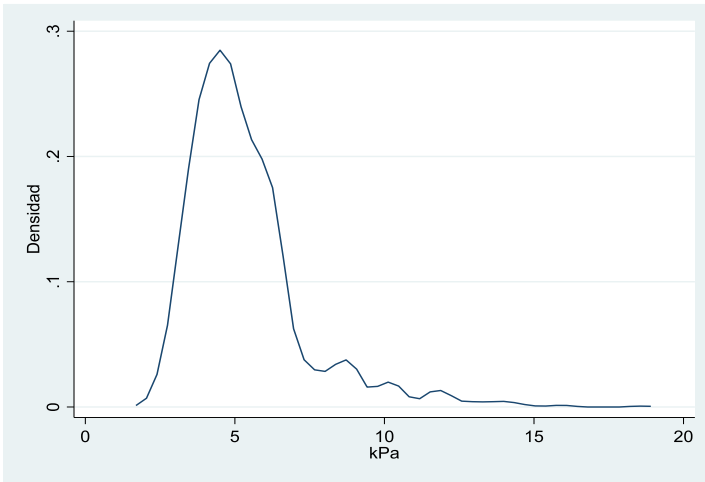


Figura 35. Distribució d'EH de la mostra original

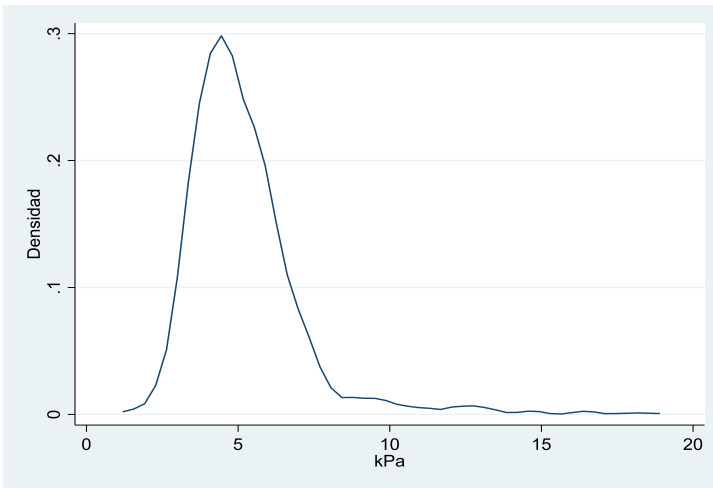


Figura 36. Distribució d'EH de la mostra de validació

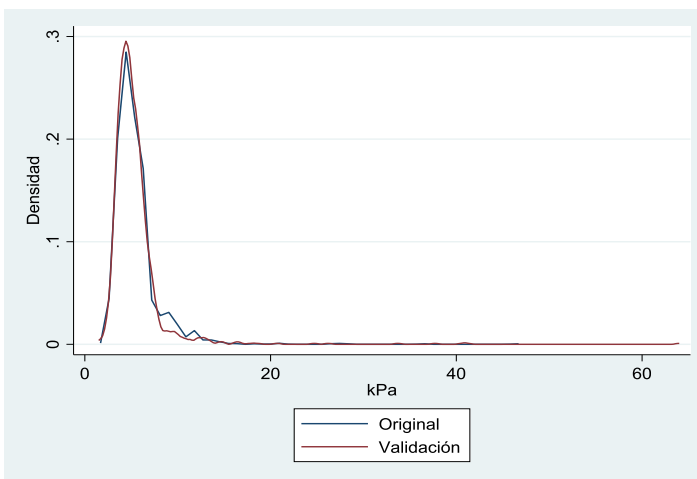


Figura 37: Distribució d'EH en la totalitat de les dues cohorts

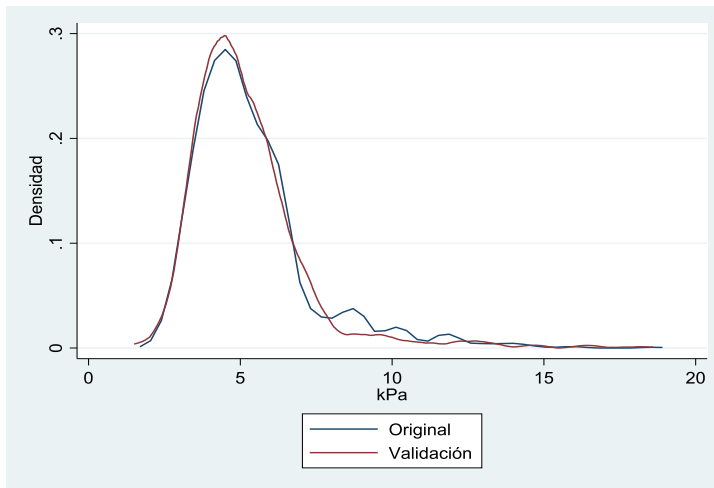


Figura 38. Distribució d'EH de les dues cohortes exclouent els pacients amb EH > 20 kPa

Per tant, i a la vista dels resultats obtinguts, es pot observar com els resultats de les dues cohortes es comporten de manera similar. Això ens indica que l'algorisme proposat seria una eina molt eficaç per poder ser implantada a les consultes de l'atenció primària. D'aquesta manera, dos tercers parts de la població general per sobre dels 40 anys no haurien de sotmetre's a proves complementàries per l'estudi de la fibrosi hepàtica, i per contra ajudaria a decidir els pacients que s'han de derivar a la consulta especialitzada.

## 2.5. Comparació entre l'algorisme obtingut mitjançant el FLI i els algorismes que utilitzen els marcadors serològics FIB-4 i NAFLD fibrosis score.

La comparació es va fer amb els algorismes que utilitzen els marcadors serològics FIB-4 i NFS. Diversos autors recomanen en els pacients amb sospita de FGNA determinar els marcadors serològics de fibrosi. Aleshores el que es va fer és aplicar aquesta proposta d'algorisme a la cohort original de la present tesi de 3.014 subjectes tal i com es mostra a continuació:

Es van excloure els pacients amb marcadors virals positius, amb hepatopatia alcohòlica i els bevedors de risc ( $\geq 21/14$  UBEs setmana en homes i dones, respectivament).

Per fer aquesta comparació es va utilitzar el punt de tall de l'EH de 8 kPa ja que és el que proposen els diferents autors d'aquests algorismes.



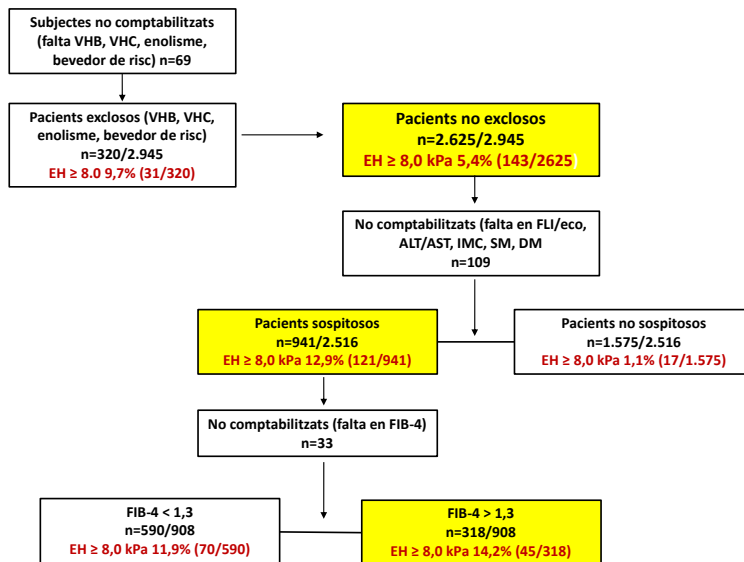


Figura 39. Comparació amb l'algòrisme utilitzant el FIB-4

Els casos sospitosos eren els que tenien fetge gras mitjançant ecografia i/o FLI > 60 o (AST/ALT > 40 U/L i DM2 / SM / IMC ≥ 30).

Com es pot observar, el que realment discrimina és ser sospitós de tenir fibrosi hepàtica en base a criteris clínics o ecogràfics (12,9% vs 1,1%). Un cop establerta aquesta sospita, tenir el FIB-4 alterat (mitjà/alt) és poc discriminant (14,2 vs 11,9%) al procés diagnòstic.

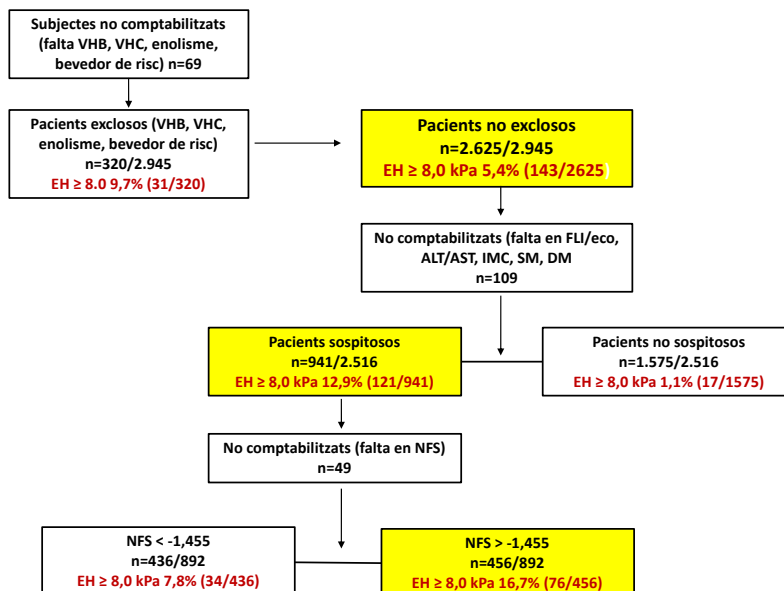


Figura 40. Comparació amb l'algòrisme utilitzant el NFS

NFS discrimina millor que FIB-4 (16,7% vs 7,8% en NFS mentre que amb FIB-4 és de 14,2 vs 11,9).

### 3. Marcadors serològics de FGNA: Aplicabilitat a l'Atenció Primària

Com s'ha comentat a la metodologia hi ha diversos marcadors serològics per al diagnòstic del FGNA. De tots ells el més validat en diversos estudis ha estat el FLI. Tanmateix ha estat el marcador utilitzat en el present treball per fer el diagnòstic del FGNA. Malgrat tot s'ha volgut estudiar altres marcadors i comparar-los entre ells. Així, s'han estudiat el FLI, el HSI i el LAP. A la taula 32, es mostren les mitjanes, així com els percentatges de presència de fetge gras en cadascun d'ells.

Taula 32. Mitjanes i percentatges dels diferents marcadors de diagnòstic de FGNA.

Marcador	Marcadors serològics diagnòstic FGNA					
	Mitjana	DE	Min	Max	%	Punt de tall
FLI	49	29	1	100	38	≥ 60
HSI	37	6	22	63	55	> 36
LAP	50	44	2	696	23	> 4.0/4.4 (homes/dones)

Malgrat les diferències en els percentatges en relació al diagnòstic del FGNA, que probablement s'explica per les diferents variables components de cada índex, entre ells mostren una bona correlació, especialment entre el FLI i HSI i el LAP, amb un valor r de 0,79 i 0,72, respectivament.

En las figures 41 a 43, es mostra la distribució dels marcadors serològics de FGNA.

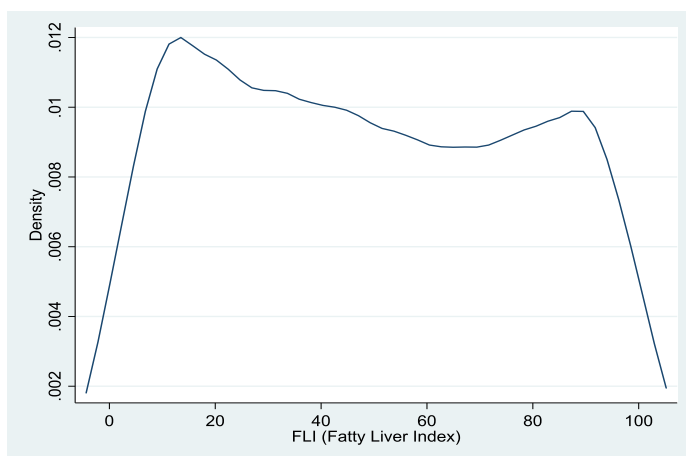


Figura 41. Distribució dels valors de FLI a la població.

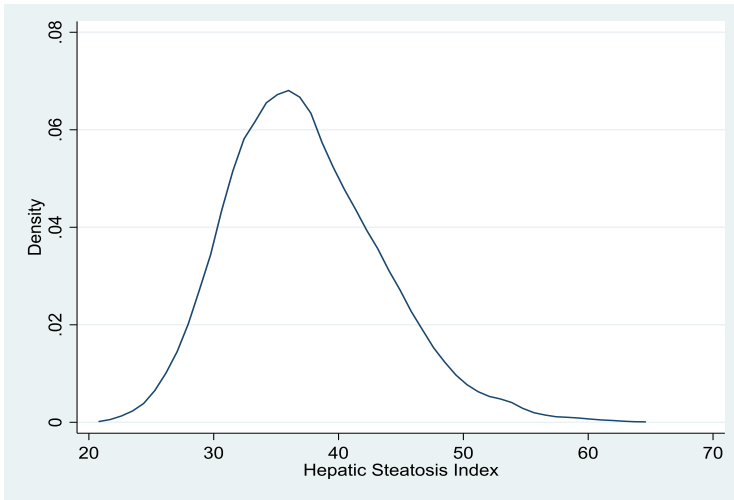


Figura 42. Distribució dels valors de HSI a la població.

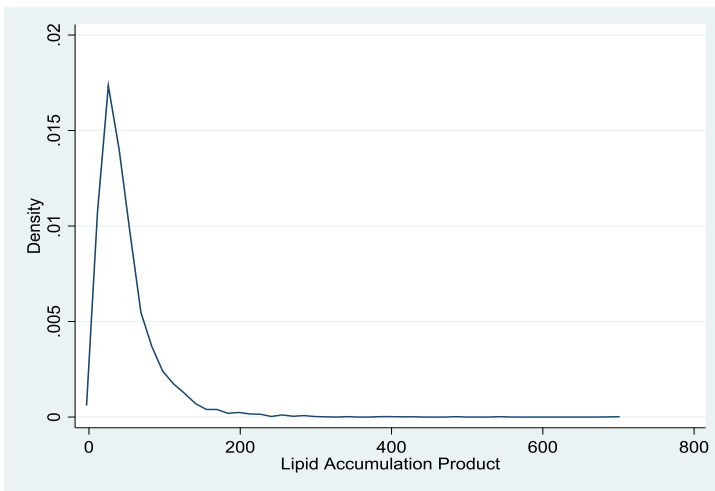


Figura 43. Distribució dels valors de LAP a la població.

Del total de la mostra, va haver un 23,5% dels subjectes que tenien un valor de les transaminases per sobre de 40 U/L i un 1,3% per sobre de 80 U/L. De manera que es va voler mirar la relació entre els diferents marcadors de FGNA i l'augment de les transaminases. A les següents figures es mostra una clara relació, entre el valor augmentat de les transaminases i si aquestes estan per sobre de 80 U/L ( $p < 0.001$ ) i els marcadors serològics de FGNA.

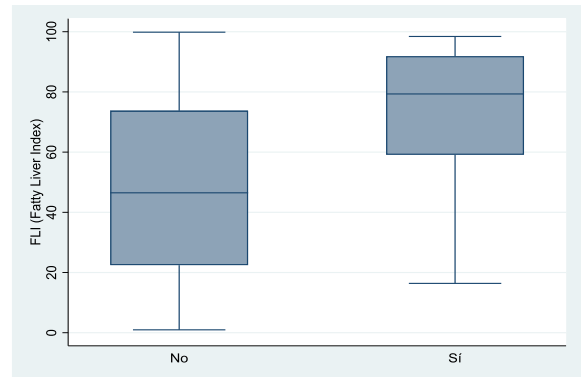
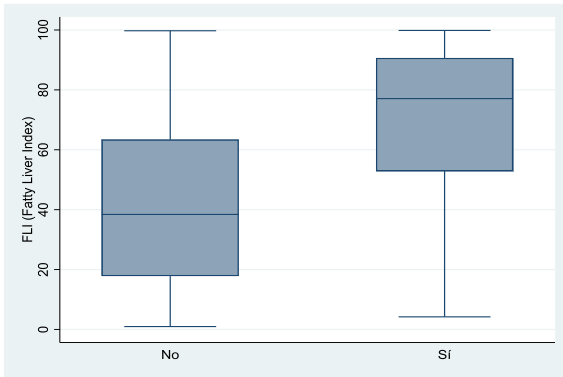


Figura 44 a i b. Relació entre FLI i transaminases altes (a) i per sobre de 80 U/l (b).

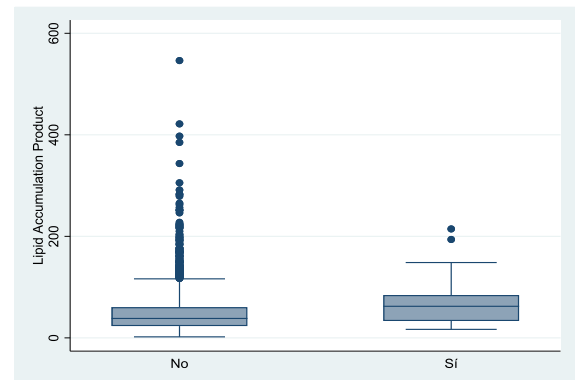
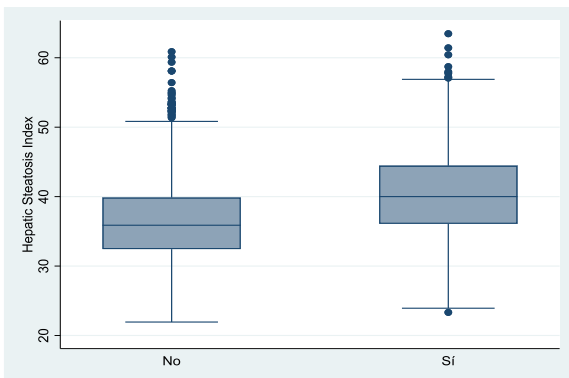


Figura 45 a i b. Relació entre HSI i transaminases altes (a) i per sobre de 80 U/l (b).

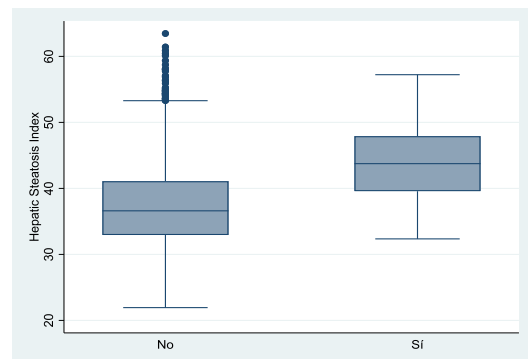
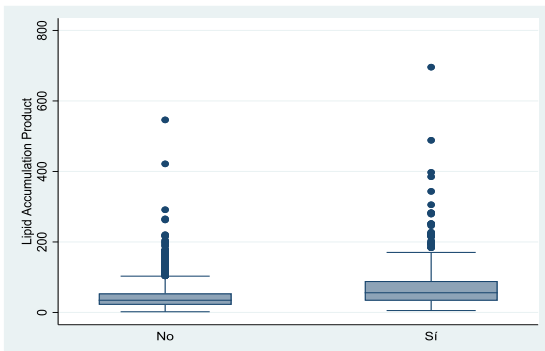


Figura 46 a i b. Relació entre LAP i transaminases altes (a) i per sobre de 80 U/l (b).

### 3.1. Marcadors serològics de FGNA i l'ecografia abdominal

Com s'ha descrit, aquells subjectes que s'havien de fer la biòpsia segons els objectius de la tesi i no se la van fer es va intentar, al menys, que tinguessin l'exploració amb una ecografia abdominal. En total van ser 401 subjectes (13%) que se'ls hi va fer una ecografia i/o biòpsia. D'aquests, 115 (29%) no tenien esteatosi i 286 (71%) tenien

esteatosi. En la següent taula es mostra la relació entre els diferents marcadors serològics de FGNA i l'ecografia abdominal.

Taula 33. Comparació dels marcadors serològics de FGNA i l'ecografia abdominal suggestiva d'esteatosi.

Marcador	FGNA				p	Punt de tall
	No		Si			
	Mitjana	DE	Mitjana	DE		
FLI	51	25	80	20	0,000	≥ 60
HSI	37	5	43	6	0,000	> 36
LAP	32	28	73	61	0,000	> 4.0/4.4 (homes/dones)

Qualsevol dels 3 marcadors serològics de FGNA es van associar significativament amb la presència de FGNA per ecografia abdominal.

### 3.2. Marcadors serològics de FGNA i la presència de fibrosi segons EH.

Es va estudiar la correlació entre els diferents marcadors serològics de FGNA i l'EH, tal i com es mostra a la taula 34.

Taula 34. Correlació entre els marcadors serològics de FGNA i l'EH.

Marcadors de FGNA	Elastografia hepàtica	
	r	r*
FLI	0,38	0,45
HSI	0,31	0,37
LAP*	0,34	0,35
ALAT*	0,22	0,27
ASAT*	0,20	0,20
GGT*	0,24	0,34

Les correlacions van ser força discretes, si bé les millors van ser amb el FLI.

Per contra hi va haver una relació positiva entre els marcadors serològics de FGNA i l'EH com es pot observar en la taula 35. En aquesta taula es mostra el valor mitjà (DE) dels marcadors segons l'alteració de l'EH de 8,0 kPa o 9,2 kPa.

Taula 35. Associació entre els marcadors de FGNA i l'EH.

	Elastografia hepàtica					
	< 8 kPa	≥ 8 kPa	p	< 9,2 kPa	≥ 9,2 kPa	p
<b>FLI, mitjana (DE)</b>	47 (28)	82 (20)	<0,001	47 (29)	87 (15)	<0,001
<b>HSI, mitjana (DE)</b>	37 (6)	44 (7)	<0,001	37 (6)	45 (7)	<0,001
<b>LAP, mediana (RIQ)</b>	37 (35)	82 (59)	<0,001	37 (36)	84 (68)	<0,001
<b>ALAT, mediana (RIQ)</b>	20 (12)	27 (20)	<0,001	20 (12)	32 (21)	<0,001
<b>ASAT, mediana (RIQ)</b>	22 (7)	24 (13)	<0,001	22 (7)	26 (18)	<0,001
<b>GGT, mediana (RIQ)</b>	23 (17)	42 (42)	<0,001	23 (18)	48 (44)	<0,001

Per últim va haver-hi també una relació positiva entre els diferents marcadors serològics de FGNA i l'EH quan es van creuar els resultats categoritzats dels marcadors serològics amb l'elastografia i valor mitjà de l'elastografia (taula 36).

Taula 36. Associació entre els marcadors de FGNA i l'EH segons variables categòriques.

	Elastografia hepàtica						Elastografia (mitjana, DE)
	< 8 kPa (n, %)	≥ 8kPa (n, %)	p	< 9,2 kPa (n, %)	≥ 9,2 kPa (n, %)	p	
<b>FLI ≥ 60</b>			<0,001			<0,001	
<b>No</b>	1.736 (99)	21 (1)		1.752 (99,7)	5 (0,3)		4,4 (1,1)
<b>Si</b>	917 (86)	145 (14)		974 (92)	88 (89)		6,0 (3,0)
<b>HSI &gt; 36</b>			<0,001			<0,001	
<b>No</b>	1.229 (99)	16 (1)		1.238 (99)	7 (1)		4,4 (1,6)
<b>Si</b>	1.395 (91)	144 (9)		1.454 (94)	85 (6)		5,4 (2,5)
<b>LAP elevat</b>			<0,001			<0,001	
<b>No</b>	2.154 (97)	58 (3)		2.185 (99)	27 (1)		4,6 (1,7)
<b>Si</b>	541 (83)	112 (17)		585 (90)	68 (10)		6,2 (3,1)
<b>Transaminases altes</b>			<0,001			<0,001	
<b>No</b>	2.073 (97)	71 (3)		2.111 (98)	33 (2)		4,7 (1,5)
<b>Si</b>	565 (86)	93 (14)		596 (91)	62 (9)		6,0 (3,4)

Tot i sabent que són marcadors serològics de fetge gras, també es va testar la utilitat diagnòstica dels marcadors serològics de FGNA com a prova per estudiar la fibrosi hepàtica, prenent com a *gold standard* els punts de tall de l'EH (taula 37).

Aquests marcadors són molt sensibles, però menys específics. Al ser la majoria de elastografies negatives, el nombre de falsos positius és molt alt i puja l'error. Tots ells presenten un VPN molt elevat.

Un dels aspectes importants dels resultats de la primera part de la tesi ha estat que la capacitat diagnòstica de fibrosi significativa del FLI va ser superior als marcadors de fibrosi NFS, FIB-4 i les transaminases.

Per aquest motiu és va voler estudiar el comportament dels altres marcadors serològics de diagnòstic de FGNA essent el *gold standard* l'EH de 8,0 kPa (taula 38 i figura 47) i 9,2 kPa (taula 39 i figura48).

Taula 37. Capacitat diagnòstica de fibrosi dels marcadors de FGNA.

	Elastografia hepàtica													
	F ≥ 8,0 kPa							F ≥ 9,2 kPa						
	Neg	Pos	S	E	VPP	VPN	%error	Neg	Pos	S	E	VPP	VPN	%error
<b>FLI ≥ 60</b>														
No	1.736	21	87%	65%	14%	99%	33%	1.752	5	95%	64%	8%	100%	35%
Si	917	145						974	88					
<b>HSI &gt; 36</b>														
No	1.229	16	90%	47%	9%	99%	51%	1.238	7	92%	46%	6%	99%	52%
Si	1.395	144						1.454	85					
<b>LAP elevat</b>														
No	2.154	58	66%	80%	17%	97%	21%	2.185	27	72%	79%	10%	99%	21%
Si	541	112						585	68					
<b>Transaminases altes</b>														
No	2.073	71	57%	79%	14%	97%	23%	2.111	33	65%	78%	9%	98%	22%
Si	565	93						596	62					

Taula 38. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de FGNA prenent com a patró de referència el punt de tall de 8,0 kPa.

N=2.754	EH 8,0 kPa		
	Àrea	IC95%	p
FLI	0,84	0,81 0,87	<0,001
HSI	0,78	0,74 0,82	
LAP	0,79	0,76 0,83	
ALT	0,68	0,63 0,72	
AST	0,61	0,56 0,66	
GGT	0,73	0,69 0,77	

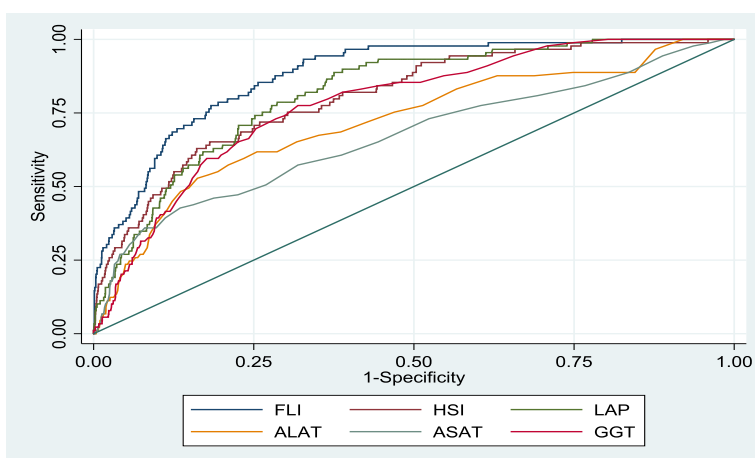


Figura 47. Corbes ROC per fibrosi de FLI, HSI, LAP i transaminases (8,0 kPa).

Taula 39. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de FGNA prenent com a patró de referència el punt de tall de 9,2 kPa.

	EH 9,2 kPa		
N=2.754	Àrea	IC95%	p
FLI	0,88	0,85 0,91	<0,001
HSI	0,80	0,76 0,85	
LAP	0,82	0,78 0,86	
ALT	0,72	0,66 0,78	
AST	0,67	0,60 0,73	
GGT	0,78	0,74 0,83	

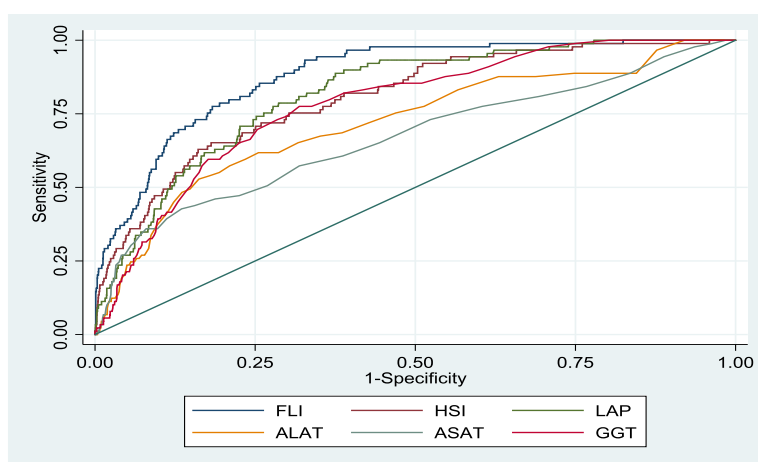


Figura 48. Corbes ROC per fibrosi de FLI, HSI, LAP i transaminases (9,2 kPa).

Com es pot observar, els diferents marcadors de FGNA presenten una bona capacitat diagnòstica de fibrosi, si bé el FLI continua oferint el millor rendiment amb qualsevol dels 2 punts de tall de l'EH.

### 3.3. Marcadors serològics de FGNA i la presència de fibrosi segons la biòpsia.

A la taula 40, es mostra el valor mitjà dels marcadors serològics de FGNA segons el grau de fibrosi establert mitjançant la biòpsia hepàtica.

Malgrat el nombre petit de pacients que es van biopsiar es va voler estudiar la correlació entre ells i el resultat histològic. S'ha de tenir en compte que els pacients biopsiats tenen una alta probabilitat de presentar alteracions hepàtiques.



Taula 40. Mitjana dels marcadors segons el grau de fibrosi obtingut per biòpsia.

	Biòpsia hepàtica		
	F0-F1 (n=64)	F2-F4 (n=28)	p
FLI, mitjana (DE)	79 (23)	86 (14)	0,177
HSI, mitjana (DE)	43 (6)	43 (5)	0,780
LAP, mediana (RIQ)	83 (60)	88 (72)	0,855
ALT, mediana (RIQ)	28 (25)	34 (35)	0,314
AST, mediana (RIQ)	25 (14)	27 (21)	0,173
GGT, mediana (RIQ)	39 (36)	53 (38)	0,026

A graus més alts de fibrosi els marcadors presenten valors més elevats, però  $p > 0,05$  excepte per la GGT. La categoria de referència ja té valors més alts que els poblacionals al ser individus amb més alta probabilitat de tenir malaltia hepàtica.

La taula 41 mostra els resultats del creuament de les variables categòriques dels marcadors serològics de FGNA amb el resultat de la biòpsia.

Taula 41. Associació entre els marcadors de FGNA i la biòpsia segons variables categòriques.

	Biòpsia hepàtica		
	F0-F1	F2-F4	p
	n (%)	n (%)	
<b>FLI <math>\geq</math> 60</b>			0,143
No	9 (90)	1 (10)	
Si	54 (68)	26 (33)	
<b>HSI &gt; 36</b>			0,377
No	9 (82)	2 (18)	
Si	53 (69)	24 (31)	
<b>LAP elevat</b>			0,924
No	22 (71)	9 (29)	
Si	42 (70)	18 (30)	
<b>Transaminases altes</b>			0,058
No	29 (81)	7 (19)	
Si	34 (62)	21 (38)	

A la taula 42 és mostra la capacitat diagnòstica dels diferents marcadors serològics de FGNA prenent com a *gold standard* el resultat de la biòpsia hepàtica, F2-F4 (+) i F0-F1 (-).

Taula 42. Capacitat diagnòstica de fibrosi dels marcadors serològics de FGNA.

	Biòpsia hepàtica						
	Neg	Pos	S	E	VPP	VPN	% error
<b>FLI ≥ 60</b>							
No	9	1	96%	14%	33%	90%	61%
Si	54	26					
<b>HSI &gt; 36</b>							
No	9	2	92%	15%	31%	82%	63%
Si	52	24					
<b>LAP elevat</b>							
No	22	9	67%	34%	30%	71%	56%
Si	42	18					
<b>Transaminases altes</b>							
No	29	7	75%	46%	38%	81%	45%
Si	34	21					

El FLI i HSI tenen una alta sensibilitat però amb una especificitat molt baixa. Això es degut a que hi ha massa falsos positius.

La taula 43 i la figura 49 mostren els valors dels diferents marcadors segons els resultats de l'àrea sota la corba ROC tenint com a *gold standard* la biòpsia hepàtica.

Taula 43. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de FGNA.

N = 87	Biòpsia hepàtica		
	Àrea	IC95%	p
FLI	0,55	0,41 0,67	0,431
HSI	0,48	0,35 0,61	
LAP	0,52	0,39 0,65	
ALT	0,56	0,43 0,70	
AST	0,58	0,45 0,72	
GGT	0,65	0,52 0,77	

Les àrees sota la corba ROC són força dolentes per a tots els marcadors, fet que pot estar penalitzat pel gran nombre de falsos positius existents amb aquests marcadors.

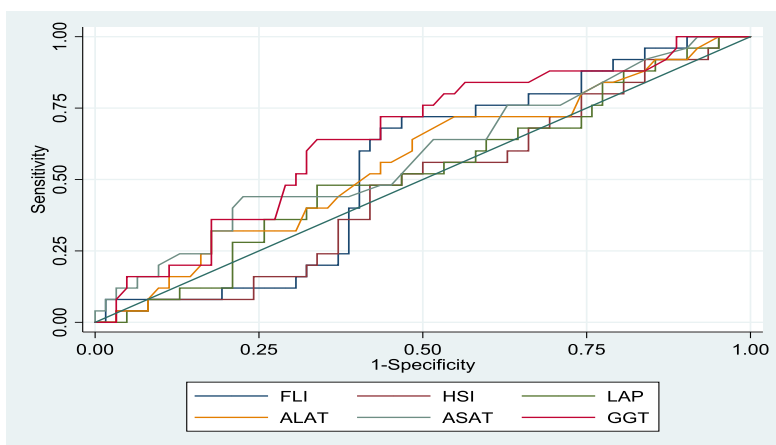


Figura 49. Corbes ROC per fibrosi de FLI, HSI, LAP i transaminases.

Per últim, i malgrat que la mostra era molt petita, es va voler estudiar els millors punts de tall per discriminar entre F0-F1 i F2-F4. En aquest cas el millor punt de tall es tria buscant el punt que estaria més a prop de la sensibilitat i especificitat igual al 100%. Hem trobat que aquests punts de tall sempre són iguals o majors que els punts de tall que aporta la literatura.

Taula 44. Valors per discriminar entre F0-F1 i F2-F4.

	Proposta	Habituals	n	S*	E*	Àrea
<b>FLI</b>	87,54	60,00	90	70%	57%	0,57
<b>HSI</b>	44,3	36,0	88	50%	58%	0,48
<b>LAP (In, homes)</b>	4,58	4,00	63	47%	59%	0,49
<b>LAP (In, dones)</b>	4,4	4,4	28	63%	60%	0,56
<b>Max (ALT, AST, GGT)</b>	48	40	91	68%	52%	0,61

\* Sensibilitat i especificitat usant el punt de tall proposat.

Aquests resultats són interessants ja que els punts de tall que proposem classifiquen millor als individus respecte a la presència real (biòpsia) de fibrosi (major concordança). En canvi, poden tenir menys interès si el que volem és descartar, especialment, un fals positiu o un fals negatiu. Per exemple (dades no mostrades), al passar d'un punt de tall de FLI de 60 a 87,54 ens estalviem 27 falsos positius (augmentem l'especificitat) a costa de tenir 7 nous falsos negatius (reduïm la sensibilitat).

#### 4. Marcadors serològics de fibrosi

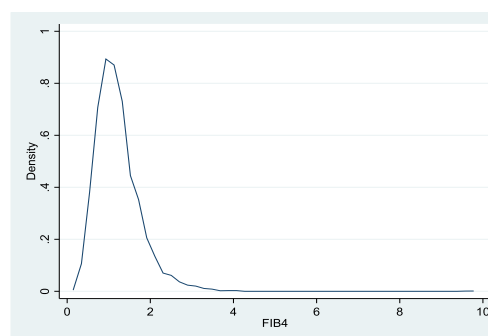
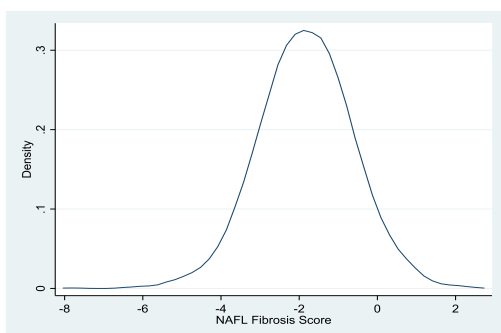
Entre tots els marcadors de fibrosi els més validats en diversos estudis han estat el NFS i el FIB-4. Tanmateix han estat els marcadors utilitzats en el present treball per fer el diagnòstic de fibrosi. Malgrat tot, s'han volgut estudiar altres marcadors i comparar-los entre ells. Així, s'han estudiat el NFS, FIB-4, APRI, Forns, eLIFT i BARD. A la taula 45, es mostren les mitjanes, així com els percentatges de presència de fibrosi.

Taula 45. Mitjanes i percentatges dels diferents marcadors serològics de fibrosi.

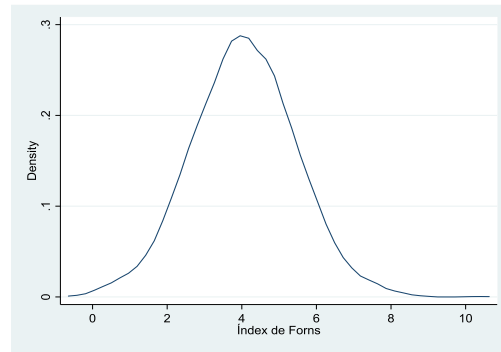
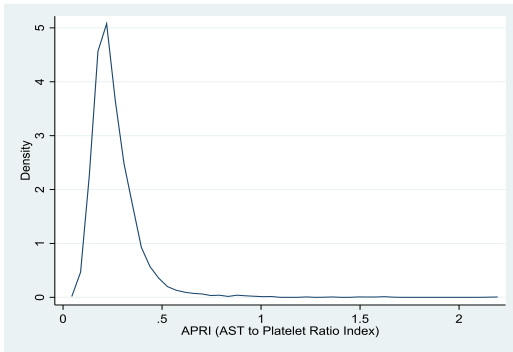
Marcadors serològics de diagnòstic de fibrosi						
Marcador	Mitjana	DE	Min	Max	% > punt tall	Punts de tall
NFS	-1,8	1,2	-7,8	2,5	38	>-1,455
FIB-4	1,2	0,5	0,2	9,7	36	$\geq 1,3$
APRI	0,26	0,13	0,06	2,18	0,14	$>1,5$
Forns	4,1	1,4	-0,4	10,4	2,20	$>6,9$
eLIFT	5,4	2,2	0,0	15,0	27	$\geq 8$
BARD	2,3	0,9	0	4	86	$\geq 2$

Com era d'esperar hi ha resultats discordants entre els diferents marcadors, probablement per les diferents característiques clíniques i variables biològiques que inclouen. Per altra banda, hi va haver una bona correlació ( $r$ ) de 0,72 entre NFS amb FIB-4 i índexs Forns i de 0,70 entre FIB-4 amb APRI i índexs Forns.

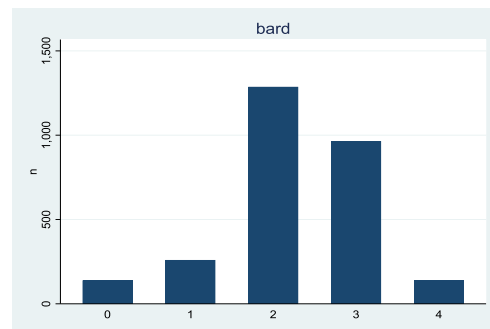
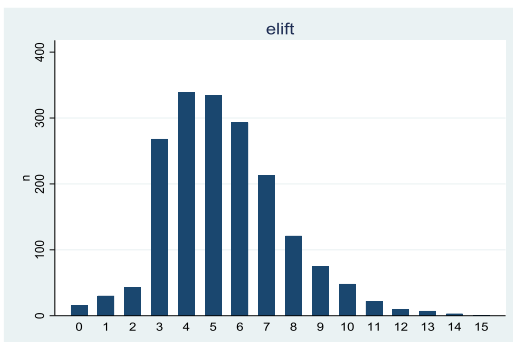
En les següents figures es mostren les distribucions dels diferents marcadors de fibrosi.



Figures 50 i 51. Distribució dels valors de NFS i FIB-4 a la població.



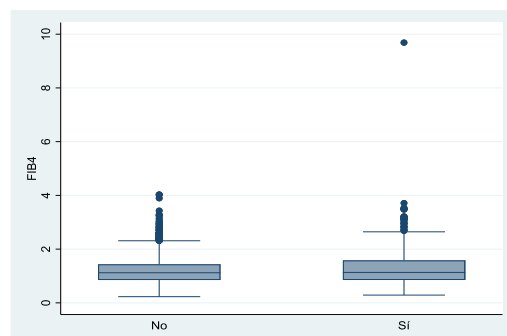
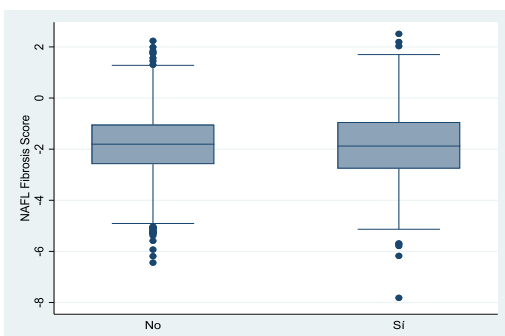
Figures 52 i 53. Distribució dels valors dels índexs APRI i Forns.



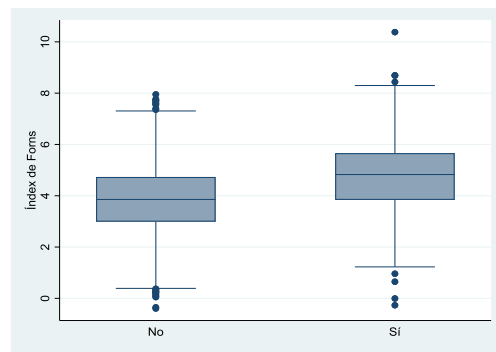
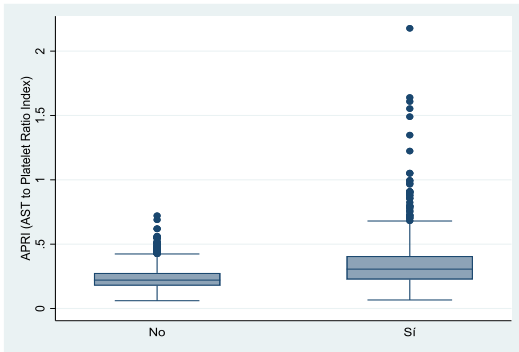
Figures 54 i 55. Distribució dels valors dels índexs eLIFT i BARD.

Les distribucions dels marcadors FIB4 i APRI tenen unes cues per la dreta que recomanen l'aplicació de logaritmes o categorització, per a fer contrastos.

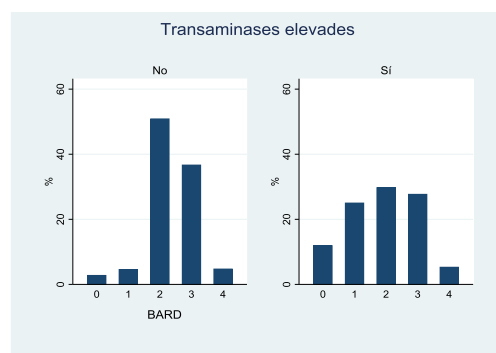
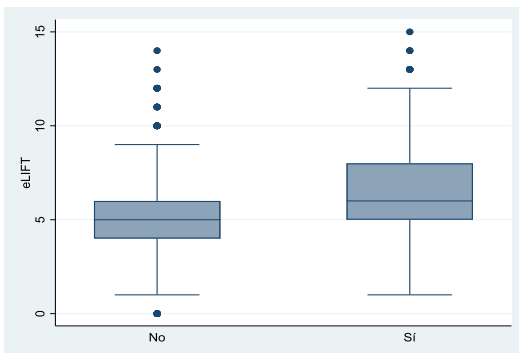
Al igual que en els marcadors serològics de diagnòstic de FGNA, es va estudiar la relació entre els diferents marcadors de fibrosi i l'augment de les transaminases. Així, com es mostra en les següents figures, tots els marcadors van mostrar una relació positiva amb les transaminases altes ( $p < 0,05$ ).



Figures 56 i 57. Relació entre NFS i FIB-4 i transaminases altes.

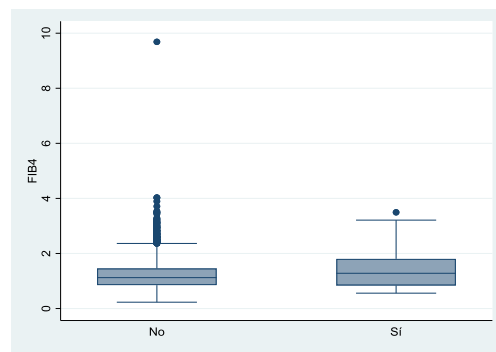
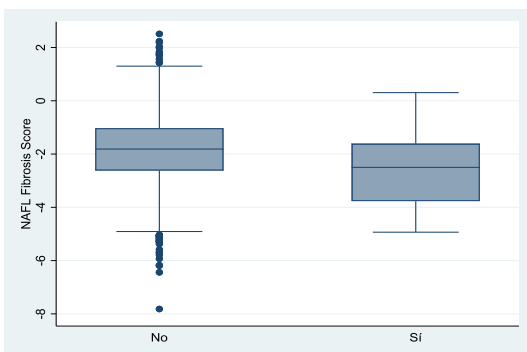


Figures 58 i 59. Relació entre els índexs APRI i Forns i transaminases altes.

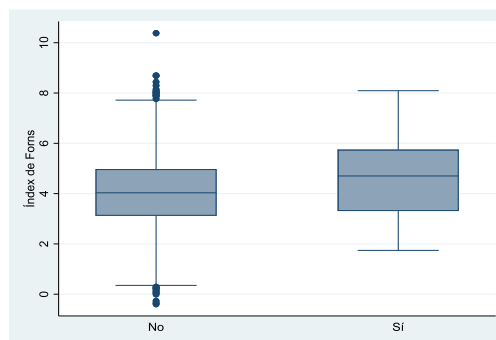
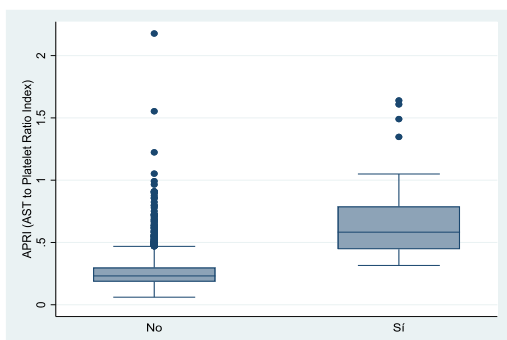


Figures 60 i 61. Relació entre els índexs eLIFT i BARD i transaminases altes.

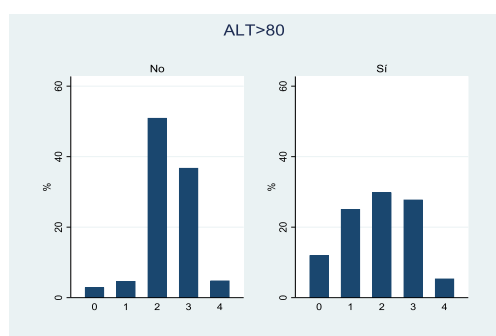
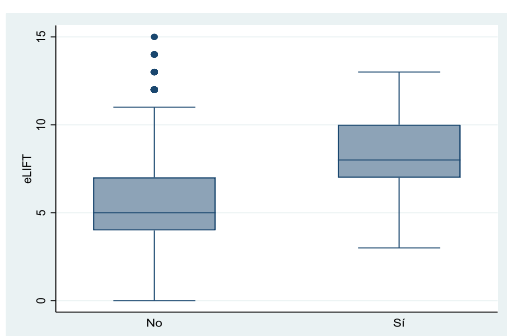
Quan es van tenir en compte un valor de les transaminases per sobre de 80 U/L, de la mateixa manera que en el cas anterior, tots els marcadors van mostrar una relació positiva i significativa ( $p < 0,05$ ).



Figures 62 i 63. Relació entre els índexs NFS i FIB-4 i transaminases  $\geq 80$  U/L.



Figures 64 i 65. Relació entre els índexs APRI i Forns i transaminases  $\geq 80$  U/L.



Figures 66 i 67. Relació entre els índexs eLIFT i BARD i transaminases  $\geq 80$  U/L.

#### 4.1. Marcadors serològics de fibrosi i FGNA.

Així mateix es va estudiar la relació entre els diferents marcadors de fibrosi i la presència de FGNA, tal com es mostra en la següent taula.

Taula 46. Relació entre els marcadors de fibrosi i el FGNA.

	FGNA				p
	No		Sí		
	Mitjana	DE	Mitjana	DE	
NFS	-2,3	1,2	-1,5	1,4	0,000
FIB-4 (p50, RIQ)	1,1	0,6	1,2	0,8	0,025
APRI (p50, RIQ)	0,29	0,17	0,32	0,22	0,172
Forns	4,5	1,5	4,9	1,5	0,028
eLIFT	6,9	2,1	6,8	2,4	0,894
BARD $\geq 2$ (n, %)	73	66	177	64	0,728
Transaminases $> 40$ U/L (n,%)	97	85	222	79	0,165
Transaminases $> 80$ U/L (n,%)	4	3,5	21	7,4	0,145

Els únics marcadors que es van relacionar de manera estadísticament significativa amb la presència de FGNA van ser el NFS, FIB-4 i el Forns.

## 4.2. Marcadors serològics de fibrosi i la presència de fibrosi segons EH.

Es van estudiar la correlació entre els diferents marcadors de fibrosi i l'EH, tal i com es mostra en la taula 47.

Taula 47. Correlació entre els marcadors serològics de fibrosi i l'EH.

Marcadors de fibrosi	Elastografia hepàtica	
	r	r*
NFS	0,24	0,23
FIB4*	0,21	0,10
APRI*	0,29	0,20
Forns	0,25	0,26
eLIFT**	0,18	0,18

\*r amb ln (elastografia) i ln (variable si té asterisc)

\*\* Correlació d'Spearman (n=1.823)

Com es pot observar les correlacions van ser força discretes.

Per contra hi va haver una relació positiva entre els marcadors de fibrosi i l'EH com es pot observar en la taula 48. En aquesta taula es mostra el valor de la mitjana ( $\pm$ DE) dels marcadors serològics de fibrosi i l'alteració de l'EH de 8,0 kPa o 9,2 kPa.

Taula 48. Associació entre els marcadors de fibrosi i l'EH.

	Elastografia hepàtica					
	< 8 kPa (mitjana, DE)	$\geq$ 8kPa (mitjana, DE)	p	< 9,2 kPa (mitjana, DE)	$\geq$ 9,2 kPa (mitjana, DE)	p
<b>NFS</b>	-1,88 (1,20)	-0,97 (1,28)	<0,001	-1,87 (1,20)	-0,71 (1,33)	<0,001
<b>FIB-4, mitjana (RIQ)</b>	1,1 (0,6)	1,2 (0,7)	<0,001	1,1 (0,6)	1,3 (0,8)	<0,001
<b>APRI, mitjana (RIQ)</b>	0,23 (0,12)	0,26 (0,18)	<0,001	0,23 (0,11)	0,31 (0,25)	<0,001
<b>Forns</b>	4,0 (1,4)	5,1 (1,5)	<0,001	4,0 (1,4)	5,4 (1,6)	<0,001
<b>eLIFT</b>	5,3 (2,1)	7,0 (2,8)	<0,001	5,3 (2,2)	7,6 (2,8)	<0,001
<b>BARD</b>	2,2 (0,9)	2,5 (1,1)	<0,001	2,2 (0,9)	2,6 (1,1)	<0,001

Va haver-hi també una relació positiva entre els diferents marcadors de fibrosi i l'EH quan es van creuar les variables categòriques dels marcadors amb l'EH com es mostra en la taula 49.

Tots els marcadors es van relacionar significativament amb el resultat de l'EH ( $p < 0,04$ ), però l'índex BARD es va comportar al revés de l'esperat.



Taula 49. Associació entre els marcadors de fibrosi i l'EH segons variables categòriques.

Elastografia hepàtica					
	< 8 kPa (n, %)	≥ 8kPa (n, %)	< 9,2 kPa (n, %)	≥ 9,2 kPa (n, %)	Elastografia (mitjana, DE)
<b>NFS &gt; -1.455</b>					
<b>No</b>	2.533 (95)	141 (5)	2.597 (97)	77 (3)	4,9 (1,9)
<b>Si</b>	39 (74)	14 (26)	41 (77)	12 (23)	8,5 (7,4)
<b>FIB-4 ≥1,3</b>					
<b>No</b>	2.571 (94)	153 (6)	2.637 (97)	87 (3)	4,9 (2,0)
<b>Si</b>	45 (87)	7 (13)	47 (90)	5 (10)	6,9 (7,2)
<b>APRI &gt; 1,5</b>					
<b>No</b>	2.611 (94)	158 (6)	2.679 (97)	90 (3)	4,9 (2,0)
<b>Si</b>	7 (78)	2 (22)	7 (78)	2 (22)	10,6 (13,6)
<b>Forns &gt; 6,9</b>					
<b>No</b>	2.623 (95)	150 (5)	2.693 (97)	80 (3)	4,9 (1,9)
<b>Si</b>	44 (71)	18 (29)	47 (76)	15 (24)	8,1 (7,1)
<b>eLIFT ≥ 8</b>					
<b>No</b>	1.642 (96)	74 (4)	1.681 (98)	35 (2)	4,7 (1,6)
<b>Si</b>	567 (89)	69 (11)	585 (92)	51 (8)	5,6 (3,4)
<b>BARD ≥ 2</b>					
<b>No</b>	362 (91)	35 (9)	375 (94)	22 (6)	4,9 (1,9)
<b>Si</b>	2262 (95)	125 (5)	2317 (97)	70 (3)	8,1 (7,1)
<b>ALAT &gt; 80</b>					
<b>No</b>	2.698 (94)	166 (6)	2.771 (97)	93 (3)	5,0 (2,2)
<b>Si</b>	33 (85)	6 (15)	34 (87)	5 (13)	6,0 (2,2)

Per últim va haver-hi també una relació positiva entre els diferents marcadors serològics de fibrosi i l'EH quan es van creuar les variables categòriques dels marcadors serològics amb l'elastografia i valor mitjà de l'elastografia, segons els valors de 8,0 kPa i 9,2 kPa, com es mostra en la taula 50.

Cap dels marcadors és sensible i específic alhora. En aquesta ocasió BARD també es comporta al revés de l'esperat amb un nombre important d'errors.

També es va estudiar la capacitat diagnòstica de cadascun dels diferents marcadors de fibrosi segons els valors de l'EH. A la taula 51 i la figura 68 es mostren els resultats de la corba ROC dels diferents marcadors estudiats tenint en compte el valor de l'EH 8,0 kPa com a punt de tall.

Taula 50. Concordança entre els marcadors de fibrosi i l'EH segons variables categòriques.

	Elastografia hepàtica														
	≥ 8,0 kPa							≥ 9,2 kPa							
	Neg	Pos	S	E	VPP	VPN	% error	Neg	Pos	S	E	VPP	VPN	% error	
<b>NFS &gt; -1.455</b>															
No	2.533	141	9%	98%	26%	95%	7%	2.597	77	13%	98%	23%	97%	4%	
Si	39	14						41	12						
<b>FIB-4 ≥ 1,3</b>															
No	2.571	153	4%	98%	13%	94%	7%	2.637	87	5%	98%	10%	97%	5%	
Si	45	7						47	5						
<b>APRI &gt; 1,5</b>															
No	2.611	158	1%	100%	22%	94%	6%	2.679	90	2%	100%	22%	97%	3%	
Si	7	2						7	2						
<b>Forns &gt; 6,9</b>															
No	2.623	150	11%	98%	29%	95%	7%	2.693	80	16%	98%	24%	97%	4%	
Si	44	18						47	15						
<b>eLIFT ≥ 8</b>															
No	1.642	74	48%	74%	11%	96%	27%	1.681	35	59%	74%	8%	98%	26%	
Si	567	69						585	51						
<b>BARD ≥ 2</b>															
No	362	35	78%	14%	5%	91%	83%	375	22	76%	14%	3%	94%	84%	
Si	2.262	125						2.317	70						
<b>ALAT &gt; 80</b>															
No	2.698	166	3%	99%	15%	94%	7%	2.771	93	5%	99%	13%	97%	4%	
Si	33	6						34	5						

Taula 51. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors serològics de fibrosi (8,0 kPa).

Marcadors de fibrosi	EH 8,0 kPa		
N=1.810	Àrea	IC95%	p
NFS	0,67	0,61 0,72	<0,001
FIB-4	0,54	0,49 0,60	
APRI	0,61	0,55 0,66	
Forns	0,69	0,63 0,74	
eLIFT	0,69	0,64 0,74	

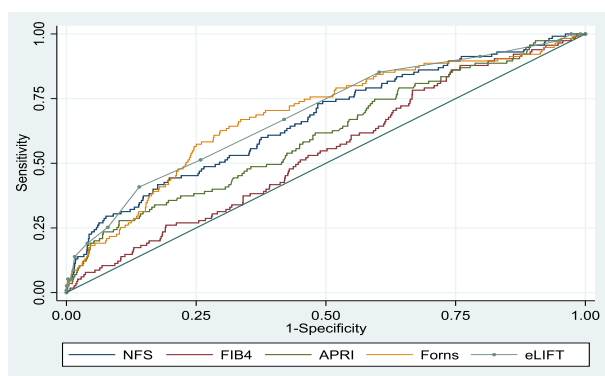


Figura 68. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors serològics de fibrosi (8,0 kPa).

A la taula 52 i figura 69 es mostra la capacitat diagnòstica dels diferents marcadors excloent el marcador eLIFT perquè faltaven els resultats d'algunes de les variables i no es va poder calcular.

Taula 52. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors serològics de fibrosi (8,0 kPa) excloent eLIFT.

Marcadors de fibrosi	EH 8,0 kPa		
N=2.724	Àrea	IC95%	p
NFS	0,67	0,65 0,74	<0,001
FIB-4	0,58	0,54 0,63	
APRI	0,62	0,57 0,67	
Forns	0,72	0,67 0,76	

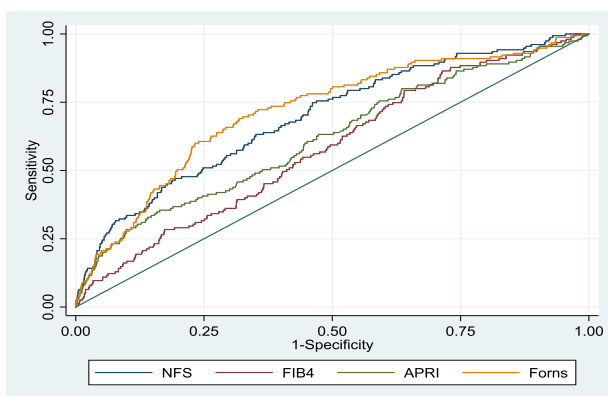


Figura 69. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors serològics de fibrosi (8,0 kPa) excloent eLIFT.

El marcador amb millor rendiment va ser el Forns i el pitjor el FIB-4 si bé no van ser massa diferents i amb àrees sota la corba relativament discretes.

A la taula 53 i la figura 70 es mostren els resultats de la corba ROC dels diferents marcadors serològics estudiats tenint en compte el valor de l'EH 9,2 kPa.

Taula 53. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors serològics de fibrosi (9,2 kPa).

Marcadors de fibrosi	EH 9,2 kPa		
N=1.810	Àrea	IC95%	p
NFS	0,71	0,64 0,77	<0,001
FIB-4	0,58	0,51 0,65	
APRI	0,67	0,60 0,74	
Forns	0,72	0,65 0,78	
eLIFT	0,75	0,69 0,82	

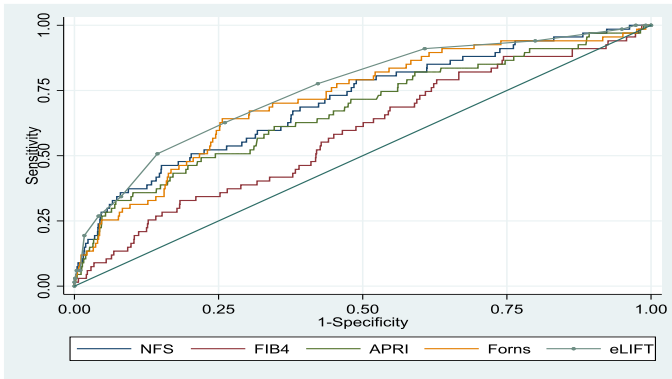


Figura 70. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors serològics de fibrosi (9,2 kPa).

En la taula 54 i figura 71 es mostra la capacitat diagnòstica dels diferents marcadors excloent el marcador eLIFT perquè faltaven els resultats d'algunes de les variables i no es va poder calcular.

Taula 54. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors serològics de fibrosi (9,2 kPa) excloent eLIFT.

Marcadors de fibrosi	EH 9,2 kPa		
N=2.724	Àrea	IC95%	p
NFS	0,74	0,69 0,80	<0,001
FIB-4	0,62	0,56 0,68	
APRI	0,67	0,61 0,74	
Forns	0,75	0,69 0,80	

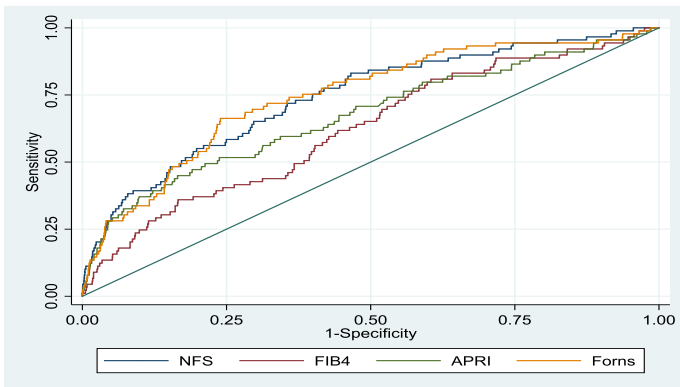


Figura 71. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors serològics de fibrosi (9,2kPa) excloent eLIFT.

Igual que en el punt de tall de 8,0 kPa, amb 9,2 kPa el marcador amb millor rendiment va ser el Forns i el pitjor el FIB-4 si bé no van ser massa diferents i amb àrees sota la corba relativament discretes.

### 4.3. Marcadors serològics de fibrosi i la presència de fibrosi segons la biòpsia.

A continuació es mostren els valors de les mitjanes amb (DE) dels marcadors de fibrosi segons el resultat de la biòpsia (taula 55).

Taula 55. Mitjana dels marcadors segons el grau de fibrosi obtingut per biòpsia.

	Biòpsia hepàtica		
	F0-F1 (n=64)	F2-F4 (n=28)	p
EH, mediana (RIQ)	8,1 (1,6)	11,8 (3,3)	<0,001
NFS	-1,41 (1,26)	-0,47 (1,31)	0,003
FIB-4, mediana (RIQ)	1,1 (0,8)	1,7 (1,5)	0,001
APRI, mediana (RIQ)	0,30 (0,21)	0,39 (0,39)	0,010
Forns	4,5 (1,4)	6,0 (1,6)	<0,001
eLIFT	6,4 (2,3)	8,1 (3,1)	0,018
BARD	2,2 (1,1)	2,4 (1,2)	0,486

Taula 56. Associació entre els marcadors de fibrosi i la biòpsia segons variables categòriques.

	Biòpsia hepàtica		
	F0-F1	F2-F4	p
	n (%)	n (%)	
EH ≥ 8,0 kPa			<0,001
No	31 (97)	1 (3)	
Si	33 (55)	27 (45)	
EH ≥ 9,2 kPa			<0,001
No	50 (96)	2 (4)	
Si	14 (35)	26 (65)	
NFS > -1.455			0,035
No	59 (74)	21 (26)	
Si	2 (33)	4 (67)	
FIB-4 ≥ 1,3			0,011
No	61 (73)	22 (27)	
Si	1 (20)	4 (80)	
APRI > 1,5			0,041
No	61 (73)	23 (27)	
Si	1 (25)	3 (75)	
Forns > 6,9			<0,001
No	63 (76)	20 (24)	
Si	0 (0)	8 (100)	
eLIFT ≥ 8			0,014
No	33 (79)	9 (21)	
Si	20 (53)	18 (47)	
BARD ≥ 2			0,604
No	18 (67)	9 (33)	
Si	44 (72)	17 (28)	
ALAT > 80			0,955
No	56 (69)	25 (31)	
Si	7 (70)	3 (30)	

A graus més alts de fibrosi els marcadors presenten resultats més elevats. És de destacar que la categoria de referència ja té valors més alts que els poblacionals al ser individus amb més alta sospita de malaltia.

Va haver-hi també una relació positiva entre els diferents marcadors de fibrosi i la biòpsia hepàtica quan es van creuar les variables categòriques dels marcadors amb els resultats de la fibrosi mitjançant la biòpsia, com es mostra a la taula 56.

El nombre de falsos negatius és molt baix amb l'EH (alta sensibilitat) i el de falsos positius millora usant el valor d'EH de 9,2 kPa. En la resta de marcadors els falsos negatius no baixen del 20%.

També es va estudiar la capacitat diagnòstica de cadascun dels diferents marcadors de fibrosi segons els valors de la biòpsia hepàtica, com es mostra a la taula 57.

Taula 57. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi segons biòpsia hepàtica.

	Biòpsia hepàtica						
	Neg	Pos	S	E	VPP	VPN	% error
<b>EH ≥ 8,0 kPa</b>							
No	31	1	96%	48%	45%	97%	37%
Si	33	27					
<b>EH ≥ 9,2 kPa</b>							
No	50	2	93%	78%	65%	96%	17%
Si	14	26					
<b>NFS &gt; -1.455</b>							
No	59	21	16%	97%	67%	74%	27%
Si	2	4					
<b>FIB-4 ≥ 1,3</b>							
No	61	22	15%	98%	80%	73%	26%
Si	1	4					
<b>APRI &gt; 1,5</b>							
No	61	23	12%	98%	75%	73%	27%
Si	1	3					
<b>Forns &gt; 6,9</b>							
No	63	20	29%	100%	100%	76%	22%
Si	0	8					
<b>eLIFT ≥ 8</b>							
No	33	9	67%	62%	47%	79%	36%
Si	20	18					
<b>BARD ≥ 2</b>							
No	18	9	65%	29%	28%	67%	60%
Si	44	17					
<b>ALAT &gt; 80</b>							
No	56	25	11%	89%	30%	69%	35%
Si	7	3					

De tots els marcadors el valor d'EH de 9,2 kPa és el millor amb una sensibilitat del 93% i una especificitat del 78%. El nombre de falsos negatius és molt baix amb l'EH i essent el millor punt de tall de 9,2 kPa. De tots, l'EH és el més sensible, de forma que serà molt

probable trobar un malalt amb fibrosi. En canvi, serà més habitual del que voldríem dictaminar sospita de fibrosi en un subjecte sa sense fibrosi.

Resultats de les corbes ROC dels diferents marcadors estudiats tenint en compte el resultat de la biòpsia hepàtica.

Taula 58. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi segons biòpsia hepàtica.

Marcadors de fibrosi			
N=61	Àrea	IC95%	p
EH	0,91	0,83 0,98	p=0,021
NFS	0,75	0,61 0,88	
FIB-4	0,74	0,60 0,87	
APRI	0,63	0,47 0,78	
Forns	0,73	0,60 0,86	
eLIFT	0,66	0,51 0,81	

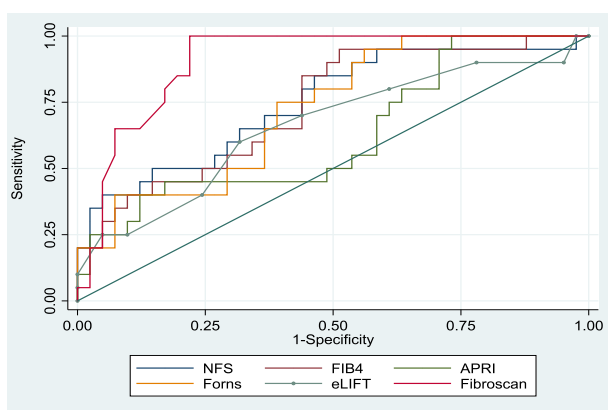


Figura 72. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors de fibros segons biòpsia hepàtica.

A la taula 59 i figura 73 es mostra la capacitat diagnòstica dels diferents marcadors excloent el marcador eLIFT perquè faltaven els resultats d'algunes de les variables i no es va poder calcular.

Taula 59. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi segons biòpsia hepàtica excloent eLIFT.

Marcadors de fibrosi			
N=86	Àrea	IC95%	p
EH	0,86	0,77 0,95	p=0,069
NFS	0,71	0,59 0,83	
FIB-4	0,71	0,59 0,83	
APRI	0,66	0,53 0,78	
Forns	0,72	0,60 0,83	

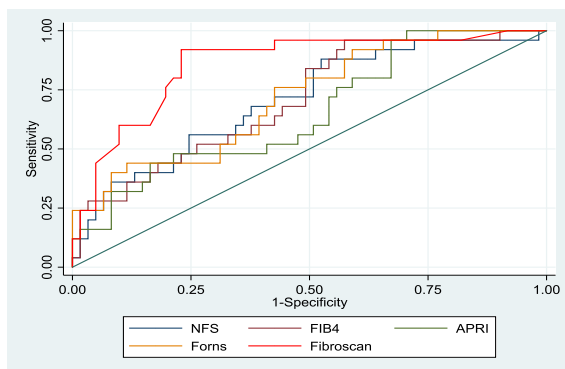


Figura 73. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors de fibrosi segons biòpsia hepàtica exclouent eLIFT.

En aquests tipus de pacients, menys sans, l'EH té un rendiment molt millor que la resta dels marcadors serològics. L'índex NFS i Forns continuen entre els millors, FIB-4 es recupera i eLIFT perd, si bé s'han de tenir en compte els intervals de confiança.

Com en el cas dels marcadors diagnòstics també s'han estudiat els millors punts de tall dels marcadors de fibrosi en la present cohort, per discriminar entre F0-F1 i F2-F4.

Taula 60. Valors per discriminar entre F0-F1 i F2-F4 segons biòpsia hepàtica.

	Biòpsia hepàtica					
	Proposada	Habitual	N	S	E	Àrea
<b>EH</b>	9,2	8,0	92	93%	78%	0,87
<b>NFS</b>	-0,650	-1,455	86	56%	75%	0,71
<b>FIB-4</b>	1,1	1,3	88	85%	52%	0,72
<b>APRI</b>	0,426	1,500	88	50%	79%	0,67
<b>Forns</b>	4,99	6,90	91	79%	57%	0,75
<b>eLIFT</b>	7	8	62	70%	57%	0,66
<b>BARD</b>	2	2	88	65%	29%	0,55
<b>ALAT</b>	28	80	91	68%	49%	0,57

El millor punt de tall es tria buscant el punt que estaria més a prop de la sensibilitat i especificitat al 100%. El millor marcador va ser l'EH, amb el punt de tall 9,2 kPa, seguit dels marcadors serològics Forns, NFS i FIB-4. BARD i ALAT es van incloure si bé una mica forçada donat que BARD té molt poques categories i ALAT hauria de ser dicotòmica amb punt de tall de 80. Com sempre s'ha d'insistir en la mostra petita de pacients biopsiats que s'ha pogut estudiar.



#### 4.4. Comparació de marcadors de FGNA i de fibrosi

Ja que es disposava de tota aquesta bateria de marcadors es va voler comparar els marcadors serològics de diagnòstic de FGNA i els de fibrosi i estudiar-ne el seu comportament.

La taula 61 mostra la capacitat diagnòstica dels marcadors tant per diagnòstic de FGNA com de fibrosi, prenent com a referència el resultat de l'EH.

Taula 61. Capacitat diagnòstica dels diversos marcadors segons el valor de l'EH.

	Elastografia hepàtica $\geq 8,0$ kPa					Elastografia hepàtica $\geq 9,2$ kPa				
	S	E	VPP	VPN	% error	S	E	VPP	VPN	% error
<b>FLI <math>\geq 60</math></b>	87%	65%	14%	99%	33%	95%	64%	8%	100%	35%
<b>HSI <math>&gt; 36</math></b>	90%	47%	9%	99%	51%	92%	46%	6%	99%	52%
<b>LAP elevat</b>	66%	80%	17%	97%	21%	72%	79%	10%	99%	21%
<b>Transaminases altes</b>	57%	79%	14%	97%	23%	65%	78%	9%	98%	22%
<b>NFS <math>&gt; 1.455</math></b>	9%	98%	26%	95%	7%	13%	98%	23%	97%	4%
<b>FIB-4 <math>\geq 1,3</math></b>	4%	98%	13%	94%	7%	5%	98%	10%	97%	5%
<b>APRI <math>&gt; 1,5</math></b>	1%	100%	22%	94%	6%	2%	100%	22%	97%	3%
<b>Forns <math>&gt; 6,9</math></b>	11%	98%	29%	95%	7%	16%	98%	24%	97%	4%
<b>eLIFT <math>\geq 8</math></b>	48%	74%	11%	96%	27%	59%	74%	8%	98%	26%
<b>BARD <math>\geq 2</math></b>	78%	14%	5%	91%	83%	76%	14%	3%	94%	84%
<b>ALAT <math>&gt; 80</math></b>	3%	99%	15%	94%	7%	5%	99%	13%	97%	4%

Com es pot veure els marcadors de fibrosi obtenen més falsos negatius al comparar-los amb l'EH. Cal recordar que el valor predictiu depèn de la prevalença de positius en l'EH, que al ser baixa, sobrepondera els VPN i desinfla els VPP. Per altra banda, al ser més fàcil tenir una EH negativa els marcadors de FGNA, menys específics, cometen més errors en global.

La taula 62 i les figures 74 i 75 mostren la capacitat diagnòstica dels marcadors en relació als punts de tall de l'EH de 8,0 kPa i 9,2 kPa.

Taula 62. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi.

Marcadors	EH 8,0 kPa			EH 9,2 kPa		
	Àrea	IC95%	p	Àrea	IC95%	p
N=2707						
FLI	0,84	0,81 0,87	P<0,001	0,88	0,85 0,91	P<0,001
HSI	0,78	0,74 0,82		0,80	0,76 0,85	
LAP	0,79	0,75 0,83		0,82	0,78 0,86	
ALAT	0,68	0,63 0,72		0,72	0,66 0,78	
ASAT	0,61	0,56 0,66		0,66	0,60 0,73	
GGT	0,73	0,68 0,77		0,78	0,74 0,82	
NFS	0,70	0,65 0,74		0,74	0,69 0,80	
FIB-4	0,58	0,53 0,62		0,62	0,56 0,68	
APRI	0,61	0,56 0,76		0,66	0,60 0,73	
Forns	0,72	0,67 0,76		0,75	0,69 0,80	

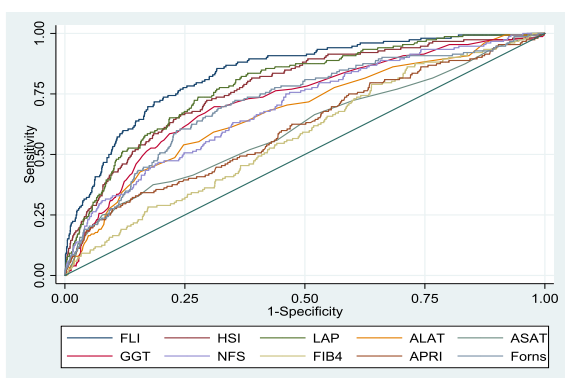


Figura 74. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH de 8,0 kPa.

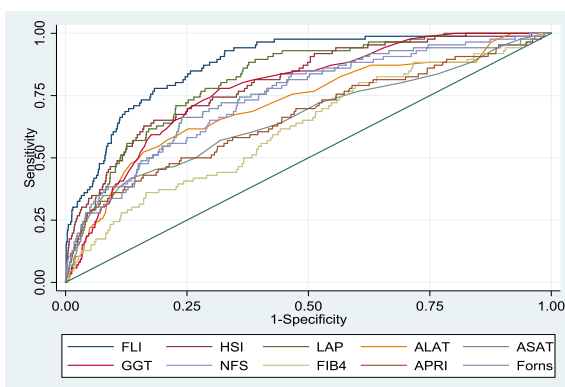


Figura 75. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH de 9,2 kPa.

En general els marcadors serològics de diagnòstic de FGNA rendeixen millor que els de fibrosi. De tots, el millor va ser el FLI amb un valor sota la corba ROC de 0,84 per un valor d'EH de 8,0 kPa i de 0,88 per un valor de 9,2 kPa. La resta dels marcadors, malgrat presentar uns valors més discrets sota la corba ROC, van ser significatius per el dos punts de tall estudiats de l'EH.

A la taula 63 es mostra la capacitat diagnòstica dels marcadors tant de diagnòstic de FGNA com de fibrosi prenent com a referència el resultat de la biòpsia hepàtica.

Taula 63. Capacitat diagnòstica dels marcadors segons la biòpsia hepàtica

	Biòpsia (F2-F4)				
	S	E	VPP	VPN	% error
EH $\geq$ 8,0 kPa	96%	48%	45%	97%	37%
EH $\geq$ 9,2 kPa	93%	78%	65%	96%	17%
FLI $\geq$ 60	96%	14%	33%	90%	61%
HSI > 36	92%	15%	31%	82%	63%
LAP elevat	67%	34%	30%	71%	56%
Transaminases altes	75%	46%	38%	81%	45%
NFS > 1.455	16%	97%	67%	74%	27%
FIB-4 $\geq$ 1,3	15%	98%	80%	73%	26%
APRI > 1,5	12%	98%	75%	73%	27%
Forns > 6,9	20%	100%	100%	76%	22%
eLIFT $\geq$ 8	67%	62%	47%	79%	36%
BARD $\geq$ 2	65%	29%	28%	67%	60%
ALAT > 80	11%	89%	30%	69%	35%

El punt de tall de 9,2 kPa és el millor predictor de F2-F4, si bé té una especificitat molt alta. Els marcadors de FGNA són molt sensibles per detectar F2-F4 i els de fibrosi molt específics.

La taula 64 i la figura 76 mostren la capacitat diagnòstica dels marcadors en relació al resultat de la biòpsia hepàtica.

Taula 64. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa (F2-F4) dels marcadors de fibrosi.

Marcadors	Biòpsia hepàtica		
	Àrea	IC95%	p
N=85			
EH	0,85	0,76 0,94	P<0,001
FLI	0,53	0,40 0,66	
HSI	0,46	0,32 0,59	
LAP	0,51	0,37 0,65	
ALAT	0,55	0,41 0,68	
ASAT	0,57	0,43 0,71	
GGT	0,63	0,50 0,76	
NFS	0,70	0,57 0,82	
FIB-4	0,70	0,58 0,82	
APRI	0,65	0,52 0,77	
Forns	0,70	0,59 0,82	

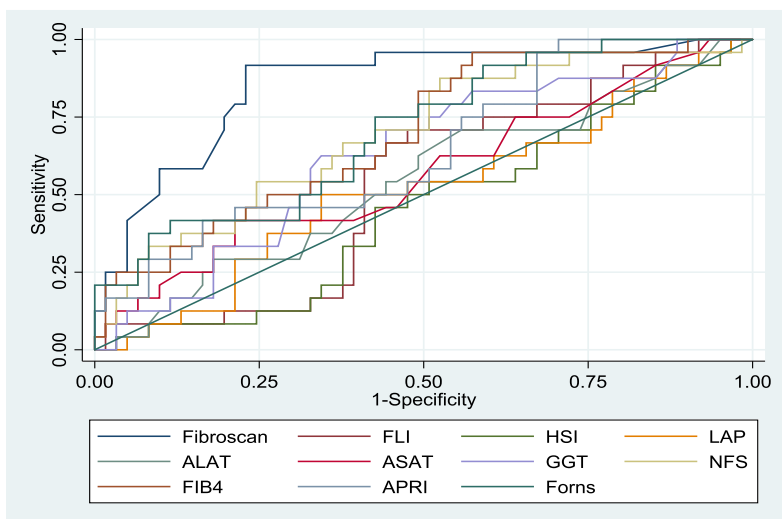


Figura 76. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a la biòpsia hepàtica.

La capacitat predictiva de fibroscan és la millor i, com es pot observar, molt per sobre de la resta.

#### 4.5. Marcadors d'esteatosi, fibrosi i EH en pacients amb un o més factors de risc.

Per aquest subestudi es van tenir en compte els components de la síndrome metabòlica així com el consum de risc d'alcohol. En la taula 65 es mostren els percentatges de cadascun d'aquests factors.

Taula 65. Percentatges dels factors de risc.

Factors de risc		
	n	%
<b>Obesitat</b>	933	31
<b>DM2 diagnosticada</b>	308	10
<b>HTA diagnosticada</b>	791	26
<b>Hipertrigliceridèmia diagnosticada</b>	321	11
<b>Síndrome metabòlica</b>	817	28
<b>Bebedor de risc</b>	275	9
<b>Al menys un dels anteriors</b>	1.779	61

Els següents anàlisis es van fer exclusivament amb els 1.779 subjectes que tenien al menys un factor de risc. A la taula 66 es mostra el valor mitjà (DE) dels marcadors segons els valors de l'EH de 8,0 kPa o 9,2 kPa.

Taula 66. Valor mitjà dels marcadors en pacients amb factor de risc segons el valor de l'EH.

	EH < 8	EH ≥ 8	p	EH < 9,2	EH ≥ 9,2	p
FLI	61 (25)	85 (16)	<0.001	62 (25)	89 (11)	<0.001
HSI	39 (6)	44 (7)	<0.001	40 (6)	46 (7)	<0.001
LAP, mediana (RIQ)	50 (41)	86 (67)	<0.001	51 (43)	87 (65)	<0.001
ALAT, mediana (RIQ)	21 (12)	28 (19)	<0.001	21 (13)	32 (21)	<0.001
ASAT, mediana (RIQ)	22 (7)	24 (13)	<0.001	22 (7)	27 (18)	<0.001
GGT, mediana (RIQ)	25 (19)	44 (41)	<0.001	26 (20)	48 (43)	<0.001
NFS	-1,54 (1,16)	-0,85 (1,22)	<0.001	-1,53 (1,16)	-0,57 (1,23)	<0.001
FIB-4, mediana (RIQ)	1,17 (0,61)	1,24 (0,68)	0,012	1,17 (0,60)	1,29 (0,81)	<0.001
APRI, mediana (RIQ)	0,23 (0,12)	0,27 (0,20)	<0.001	0,23 (0,12)	0,32 (0,25)	<0.001
Forns	4,3 (1,3)	5,1 (1,5)	<0.001	4,3 (1,3)	5,5 (1,5)	<0.001
eLIFT	5,5 (2,2)	7,2 (2,8)	<0.001	5,5 (2,2)	7,8 (2,7)	<0.001
BARD	2,4 (0,9)	2,6 (1,1)	0,075	2,4 (0,9)	2,5 (1,1)	0,072

Hi va haver una relació positiva entre els marcadors de FGNA i de fibrosi amb els diferents punts de tall de l'EH. A la taula 67 es mostra el creuament de les variables categòriques dels marcadors serològics de FGNA i de fibrosi amb els diferents punts de tall de l'EH i el valor mitjà de l'EH.

Taula 67. Relació entre els marcadors de fibrosi i l'EH segons variables categòriques.

	EH < 8	EH ≥ 8	EH < 9,2	EH ≥ 9,2	EH
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	Mitjana (DE)
<b>FLI ≥ 60</b>					
No	693 (98)	12 (2)	703 (99,7)	2 (0,3)	4,5 (1,2)
Sí	844 (86)	143 (14)	900 (91)	87 (9)	6,0 (3,0)
<b>HSI &gt; 36</b>					
No	423 (97)	12 (3)	429 (99)	6 (1)	4,7 (2,0)
Sí	1098 (89)	137 (11)	1154 (93)	81 (7)	5,7 (2,7)
<b>LAP elevat</b>					
No	1066 (96)	48 (4)	1090 (98)	24 (2)	4,9 (2,0)
Sí	501 (82)	111 (18)	545 (89)	67 (11)	6,3 (3,2)
<b>Transaminases altes</b>					
No	1135 (95)	62 (5)	1168 (98)	29 (2)	4,9 (1,7)
Sí	400 (81)	91 (19)	430 (88)	61 (12)	6,5 (3,8)
<b>NFS &gt; -1.455</b>					
No	1455 (92)	130 (8)	1513 (95)	72 (5)	5,3 (2,1)
Sí	38 (73)	14 (27)	40 (77)	12 (23)	8,7 (7,4)
<b>FIB-4 ≥ 1.3</b>					
No	1480 (91)	142 (9)	1540 (95)	82 (5)	5,3 (2,2)
Sí	36 (84)	7 (16)	38 (88)	5 (12)	7,5 (7,8)
<b>APRI &gt; 1.5</b>					
No	1512 (91)	147 (9)	1574 (95)	85 (5)	5,4 (2,4)
Sí	5 (71)	2 (29)	5 (71)	2 (29)	12,5 (15,0)
<b>Forns &gt; 6.9</b>					
No	1507 (92)	138 (8)	1570 (95)	75 (5)	5,3 (2,2)
Sí	39 (68)	18 (32)	42 (74)	15 (26)	8,5 (7,3)
<b>eLIFT ≥ 8</b>					
No	957 (94)	66 (6)	992 (97)	31 (3)	5,1 (1,7)
Sí	319 (82)	68 (18)	337 (87)	50 (13)	6,4 (4,0)
<b>BARD ≥ 2</b>					
No	252 (88)	33 (12)	264 (93)	21 (7)	5,7 (2,1)
Sí	1269 (92)	116 (8)	1319 (95)	66 (5)	5,3 (2,6)
<b>ALAT &gt; 80</b>					
No	1562 (91)	154 (9)	1628 (95)	88 (5)	5,4 (2,5)
Sí	22 (79)	6 (21)	23 (82)	5 (18)	6,7 (2,2)

Tots els marcadors serològics presenten una significació  $p < 0.05$  per el dos punts de tall, excepte en els marcadors FIB-4, APRI i BARD amb una significació entre 0.05 i 0.10. Es va poder observar una relació positiva entre els marcadors i l'EH, excepte en el marcador BARD.

També es va estudiar la capacitat diagnòstica de fibrosi significativa de cadascun dels diferents marcadors segons els valors de l'EH, com es mostra a la taula 68.

Taula 68. Capacitat diagnòstica de fibrosi dels marcadors segons l'EH en pacients amb factors de risc.

	EH $\geq 8,0$ kPa							EH $\geq 9,2$ kPa						
	Neg	Pos	S	E	VPP	VPN	% error	Neg	Pos	S	E	VPP	VPN	% error
<b>FLI <math>\geq 60</math></b>	693	143	92%	45%	14%	98%	51%	703	2	98%	44%	9%	100%	53%
No	844							900	87					
<b>HSI <math>&gt; 36</math></b>	423	12	92%	28%	11%	97%	66%	429	6	93%	27%	7%	99%	69%
No	1098	137						1154	81					
<b>LAP elevat</b>	1066	48	70%	68%	18%	96%	32%	1090	24	74%	67%	11%	98%	33%
No	501	111						545	67					
<b>Transaminases altes</b>	1135	62	59%	74%	19%	95%	27%	1168	29	68%	73%	12%	98%	27%
No	400	91						430	61					
<b>NFS <math>&gt; -1.455</math></b>	1455	130	10%	97%	27%	92%	10%	1513	72	14%	97%	23%	95%	7%
No	38	14						40	12					
<b>FIB-4 <math>\geq 1,3</math></b>	1480	142	5%	98%	16%	91%	11%	1540	82	6%	98%	12%	95%	7%
No	36	7						38	5					
<b>APRI <math>&gt; 1,5</math></b>	1512	147	1%	100%	29%	91%	9%	1574	85	2%	100%	29%	95%	5%
No	5	2						5	2					
<b>Forns <math>&gt; 6,9</math></b>	1507	138	12%	97%	32%	92%	10%	1570	75	17%	97%	26%	95%	7%
No	39	18						42	15					
<b>eLIFT <math>\geq 8</math></b>	957	66	51%	75%	18%	94%	27%	992	31	62%	75%	13%	97%	26%
No	319	68						337	50					
<b>BARD <math>\geq 2</math></b>	252	33	78%	17%	8%	88%	78%	264	21	76%	17%	5%	93%	80%
No	1269	116						1319	66					
<b>ALAT <math>&gt; 80</math></b>	1562	154	4%	99%	21%	91%	10%	1628	88	5%	99%	18%	95%	6%
No	22	6						23	5					

Els resultats són molt semblants als observats en la població general, però amb valors de sensibilitat i especificitat dels marcadors reforçats.

A la taula 69 i les figures 77 i 78 es mostra la capacitat diagnòstica dels marcadors en relació als resultats de l'EH, en pacients amb factors de risc.

Taula 69. Capacitat diagnòstica de fibrosi significativa dels marcadors de fibrosi en pacients amb factors de risc.

Marcadors	EH 8,0 kPa			EH 9,2 kPa		
	Àrea	IC95%	p	Àrea	IC95%	p
N=1.625						
FLI	0,79	0,75 0,83	P<0,001	0,83	0,80 0,87	P<0,001
HSI	0,71	0,67 0,76		0,73	0,68 0,79	
LAP	0,73	0,69 0,77		0,75	0,70 0,80	
ALAT	0,66	0,61 0,71		0,70	0,63 0,76	
ASAT	0,60	0,54 0,65		0,66	0,59 0,73	
GGT	0,71	0,66 0,75		0,76	0,71 0,81	
NFS	0,65	0,60 0,69		0,70	0,64 0,76	
FIB-4	0,56	0,51 0,61		0,61	0,55 0,67	
APRI	0,61	0,55 0,66		0,66	0,60 0,73	
Forns	0,68	0,63 0,73		0,71	0,66 0,77	

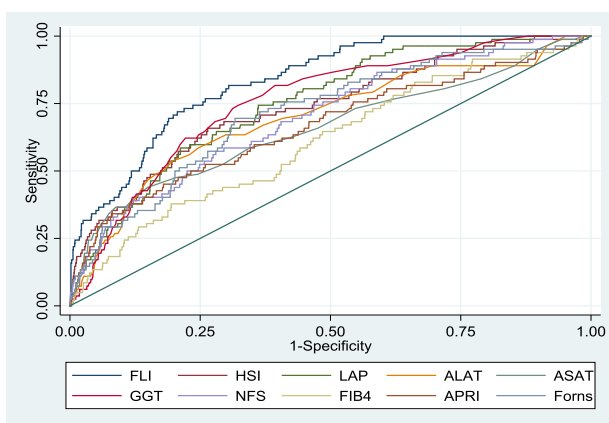


Figura 77. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH 8,0 kPa en pacients amb factors de risc.

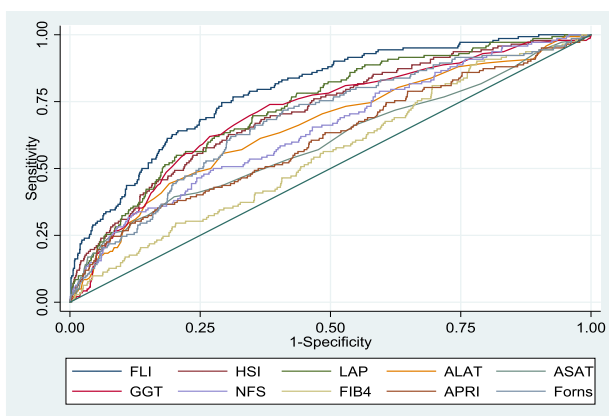


Figura 78. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH 9,2 kPa en pacients amb factors de risc.

Una vegada més, FLI obté el millor rendiment, usant qualsevol dels 2 punts de tall de l'EH. Malgrat tot, en general, en els subjectes amb factors de risc, les corbes són una mica pitjors que en la població general.

També es va estudiar la capacitat diagnòstica dels diferents marcadors en els subjectes amb factors de risc segons el resultat de la biòpsia hepàtica. S'ha de tenir en compte que els pacients biopsiats són pacients molt susceptibles de tenir alteracions hepàtiques, 88 dels 92 pacients biopsiats (96%) tenien almenys un factor de risc.

Quan es va fer el creuament de les variables categòriques dels marcadors serològics de diagnòstic de FGNA i de fibrosi amb la biòpsia, al ser pràcticament els mateixos subjectes, els canvis respecte a les taules dels objectius 2 i 3 són mínims i no els mostro.

Com en el cas anterior a l'estudiar la capacitat diagnòstica prenent com a referència el resultat de la biòpsia F0-F1 (-), F2-F4 (+), els canvis respecte a les taules dels objectius 2 i 3 van també ser mínims.

Igualment en estudiar la capacitat predictiva dels diferents marcadors en relació a la biòpsia, al ser pràcticament els mateixos subjectes els canvis respecte a les taules dels objectius 2 i 3 també van ser mínims.

#### **4.6. Capacitat i relació d'ELF amb els marcadors de diagnòstic de FGNA, de fibrosis i amb l'EH i la biòpsia hepàtica.**

Es va fer un subestudi per analitzar la capacitat diagnòstica de l'ELF en relació a la fibrosi en aquells pacients que tenien una hipertransaminasemia. Finalment es va poder estudiar aquest marcador en un total de 199 (8,9%) pacients. D'aquests 114 eren homes i 85 dones amb una edat mitjana de  $56 \pm 10$  anys. A la figura 79 es mostra la distribució de valors d'ELF. La mitjana va ser de 9,2 amb una desviació estàndard de 0,8, amb un valor mínim de 6,9 i un màxim de 12.

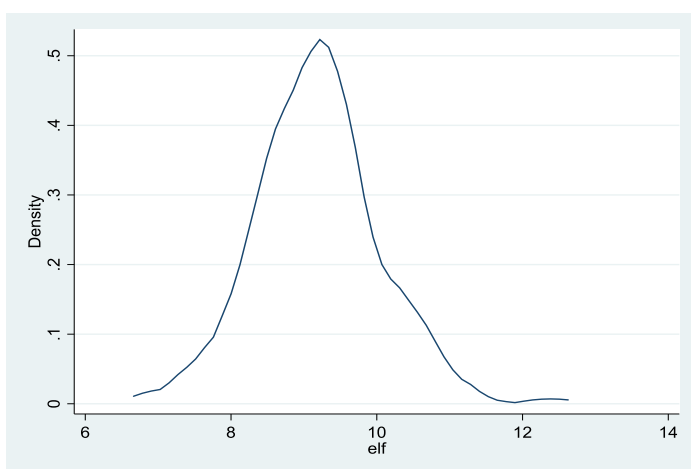


Figura 79. Distribució dels valors de ELF en els subjectes amb transaminases elevades.



A la taula 70 es mostren les correlacions lineals (r) entre l'ELF, els diferents marcadors i l'EH.

Taula 70. Correlació entre ELF i els marcadors de fibrosi.

Marcadors	ELF
	r
FLI	0,31
HSI	0,28
LAP	0,21
ALAT	0,11
ASAT	0,16
GGT	-0,02
NFS	0,42
FIB-4	0,34
APRI	0,22
Forns	0,38
EH	0,46

Com es pot observar la millor correlació, entre el marcadors serològics de diagnòstic de FGNA van ser amb el FLI seguit d'HSI i LAP. Entre els marcadors de fibrosi el millor va ser l'EH seguida de NFS, l'índex Forns i FIB-4. Tot i això els resultats van ser molt discrets.

També es va analitzar la relació entre l'ELF i els valors de l'EH, ja sigui de 8,0 kPa o 9,2 kPa. Els resultats es mostren a la taula 71.

Taula 71. Relació entre l'ELF i l'EH.

	EH < 8 kPa		EH ≥ 8 kPa		P	EH < 9,2 kPa		EH ≥ 9,2 kPa		p
	Mitjana	DE	Mitjana	DE		Mitjana	DE	Mitjana	DE	
ELF	9,06	0,78	9,94	0,81	<0,001	9,09	0,78	10,11	0,89	<0,001

La mitjana d'ELF va ser superior amb l'augment del valor de l'EH, especialment amb els subjectes amb  $EH \geq 9,2$  kPa.

La taula 72 i les figures 80 i 81 mostren la capacitat diagnòstica dels marcadors incloent l'ELF en relació als resultats de l'EH.

Taula 72. Capacitat diagnòstica de fibrosi dels marcadors segons l'EH incloent ELF.

Marcadors	EH 8,0 kPa		EH 9,2 kPa	
	Àrea	IC95%	Àrea	IC95%
N=186				
FLI	0,79	0,71 0,87	0,77	0,66 0,88
HSI	0,74	0,67 0,83	0,74	0,61 0,87
LAP	0,72	0,63 0,82	0,72	0,60 0,83
NFS	0,80	0,71 0,88	0,82	0,73 0,91
FIB-4	0,75	0,65 0,85	0,79	0,68 0,90
ELF	0,79	0,70 0,88	0,84	0,74 0,93

$p=0,016$  per EH 8,0 kPa i  $p=0.192$  per EH 9,2 kPa, per a la hipòtesi de que totes les corbes són iguals.

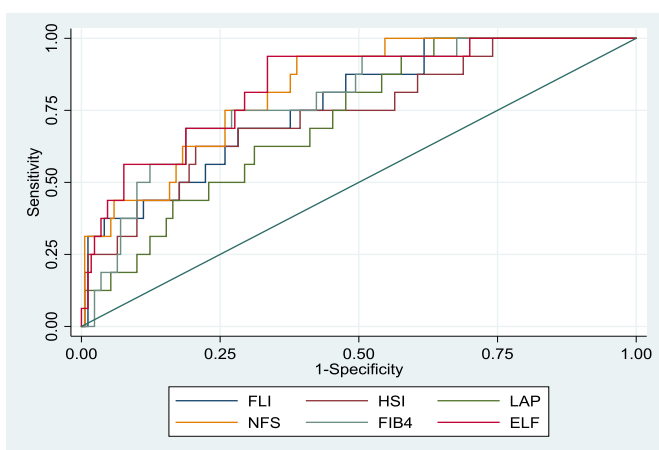


Figura 80. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH 8,0 kPa incloent ELF.

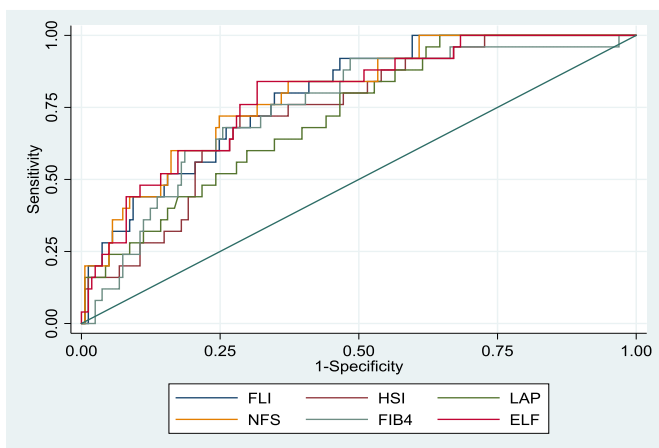


Figura 81. Corbes ROC de fibrosi dels marcadors en relació a l'EH 9,2 kPa incloent ELF.

Amb un valor d'EH  $\geq 8,0$  kPa els marcadors es correlacionen de manera similar, essent els millors el FLI, NFS i l'ELF. Amb EH  $\geq 9,2$  kPa els marcadors que millor es correlacionen són l'ELF i el NFS. Cal recordar que aquests pacients tenen les transaminases més altes amb unes mitjanes de ALT 43 U/L, AST 35 U/L i GGT 70 U/L vs ALT 24 U/L, AST 24 U/L i GGT 33 U/L en els 3.014 subjectes de l'estudi original.

Del total de pacients biopsiats només hi havien 18 pacients en els que es pogués determinar l'ELF i d'aquests només 5 tenien una fibrosi F2-F4.

Taula 73. Capacitat diagnòstica d'ELF segons la biòpsia hepàtica.

	F0-F1		F2-F4		p
	Mitjana	DE	Mitjana	DE	
n=18					
ELF	9,63	0,65	9,71	0,45	0,812

## 5. LA SÍNDROME METABÒLICA COM A FACTOR DES RISC DE FIBROSI HEPÀTICA EN SUBJECTES AMB CONSUM DE RISC D'ALCOHOL.

### 5.1. Característiques de la població

Dels 3.014 subjectes inclosos, en 2.980 hi havia informació sobre el consum d'alcohol. D'aquests, 1.760 (58,4%) havien consumit alcohol en qualsevol moment de la seva vida segons les definicions utilitzades. Dels 1.760 subjectes, 263 eren antics bevedors, mentre que 1.497 eren bevedors actius en el moment de l'estudi. Entre els bevedors actuals, 1.222 van ser classificats com a bevedors moderats i 275 com a bevedors amb consum de risc (40,5% i 9,1% de la població global, respectivament). Les característiques basals dels subjectes classificats segons el consum d'alcohol es mostren a la taula 74.

Taula 74. Característiques basals de la població de l'estudi classificada en quatre grups segons el consum d'alcohol: 1) sempre abstinentes, 2) ex-bevedors, 3) bevedors moderats i 4) bevedors de risc.

	Bevedors actuals				p
	Sempre abstinentes n= 1.220	Ex-bevedors n=263	Moderats n=1.222	Alt risc n=275	
Sexe masculí (n)	245 (29)	143 (54)	678 (55)	213 (77)	0,000
Edat (anys)	53 (12)	52 (13)	55 (11)	57 (10)	0,000
Consum actual d'alcohol (UBEs/set)	0 (0)	0 (0)	6 (7)	29 (14)	0,000
Duració consum d'alcohol (anys)	0 (0)	10 (20)	30 (25)	35 (17)	0,000
Síndrome metabòlica (n)	333 (29)	77 (30)	308 (26)	92 (34)	0,051
Obesitat (n)	396 (33)	82 (31)	347 (28)	98 (36)	0,034
Obesitat abdominal (n)	672 (56)	122 (46)	550 (45)	126 (46)	0,000
Hipertensió arterial (n)	299 (25)	71 (27)	321 (26)	88 (32)	0,083
Diabetis tipus 2 (n)	111 (9)	33 (13)	127 (10)	32 (12)	0,275
Glicèmia (mg/dl)	99 (25)	101 (29)	101 (26)	104 (26)	0,010
Colesterol total (mg/dl)	213 (38)	201 (38)	213 (40)	218 (43)	0,000
LDL colesterol (mg/dl)	134 (34)	127 (34)	135 (35)	133 (39)	0,013
Triglicèrids (mg/dl)	119 (72)	128 (86)	122 (75)	152 (124)	0,000
AST (U/L)	23 (9)	24 (9)	24 (9)	26 (11)	0,000
ALT (U/L)	22 (13)	25 (15)	24 (14)	27 (16)	0,000
GGT (U/L)	20 (14)	23 (16)	25 (18)	38 (39)	0,000
Ferritina (ng/ml)	60 (83)	82 (107)	98 (133)	135 (163)	0,000
Fatty Liver Index (mitjana, DE)	45 (29)	49 (39)	49 (29)	61 (28)	0,000
<30	428 (38)	86 (35)	366 (32)	44 (17)	0,000
30-60	325 (29)	63 (26)	349 (30)	72 (27)	
≥60	371 (33)	98 (40)	437 (38)	146 (56)	

Les dades són n (%) o mitjanes (DE), excepte la durada del consum d'alcohol, mitjana (IQR).

Els pacients amb consum de risc d'alcohol eren més grans i preferentment homes. Com era d'esperar, tant la quantitat com la durada del consum d'alcohol van ser majors en el grup de risc en comparació amb els altres grups. La prevalença d'obesitat, colesterol total, triglicèrids, transaminases, GGT i valors de ferritina va ser superior en el grup de bevedors de risc. No es van trobar diferències significatives en altres factors de risc cardiovascular com la HTA, DM2 o la SM, tot i que hi havia una tendència a una major prevalença en els bevedors de risc. Finalment, la prevalença de FLI  $\geq 60$  va ser major en els bevedors de risc, cosa que suggereix una major prevalença d'esteatosi hepàtica en aquest grup de subjectes.

## 5.2. Elastografia hepàtica, marcadors serològics de fibrosi i resultat histològic

L'EH mitjana va ser superior en el grup de bevedors de risc en comparació amb els altres grups (taula 75). A més, el 10% dels bevedors de risc tenien l'EH  $\geq 8$  kPa, en comparació amb prevalències més baixes (5-6%) en els altres grups, cosa que indica una major prevalença de fibrosi hepàtica significativa entre els bevedors de risc. La distribució dels valors d'EH en els quatre grups mostra un desplaçament cap a la dreta en els valors d'EH en el grup de bevedors de risc (Figura 82). Els valors dels marcadors serològics, FIB-4 i NFS, van presentar canvis en paral·lel a l'EH en els quatre grups (taula 75 i figures 83,84).

Taula 75. EH, NFS i FIB-4 en la població d'estudi classificats com abstinentes, ex-bevedors, bevedors moderats i d'alt risc.

			Bevedors actuals		p
	Sempre abstinentes n= 1.220	Ex-bevedors n=263	Moderats n=1.222	Alt risc n=275	
<b>NAFLD fibrosi score, mitjana (DE)</b>	-1,9 (1,3)	-1,9 (1,3)	-1,8 (1,2)	-1,7 (1,2)	0,003
<b>Risc baix</b>	698 (64)	153 (64)	691 (62)	138 (55)	0,114
<b>Risc intermedi</b>	373 (34)	82 (34)	400 (36)	107 (42)	
<b>Risc alt</b>	23 (2)	3 (1)	18 (2)	8 (3)	
<b>FIB-4, mitjana (DE)</b>	1,1 (0,5)	1,2 (0,5)	1,3 (0,5)	1,4 (0,6)	0,000
<b>Risc baix</b>	759 (69)	164 (68)	698 (61)	140 (54)	0,000
<b>Risc intermedi</b>	333 (30)	75 (31)	415 (37)	108 (42)	
<b>Risc alt</b>	15 (1)	3 (1)	24 (2)	9 (4)	
<b>Elastografia hepàtica (kPa)</b>	4,4 (1,7)	4,7 (1,7)	4,6 (1,7)	4,9 (2,1)	0,000
<b>Elastografia hepàtica <math>\geq 8</math> kPa</b>	63 (5)	12 (5)	69 (6)	28 (10)	0.010

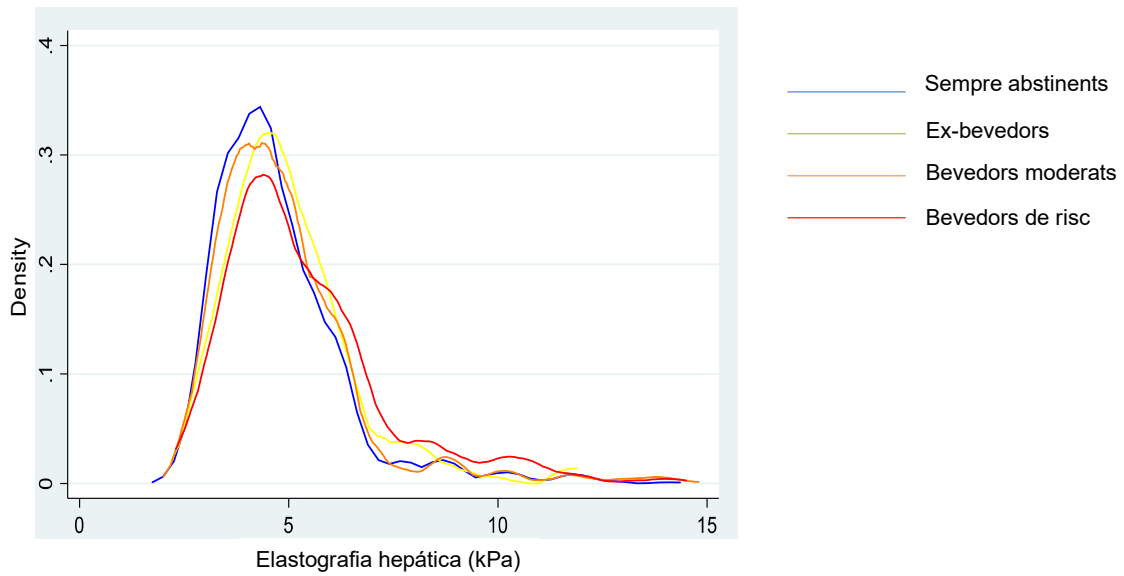


Figura 82. Distribució dels valors de l'EH en els quatre grups segons consum d'alcohol.

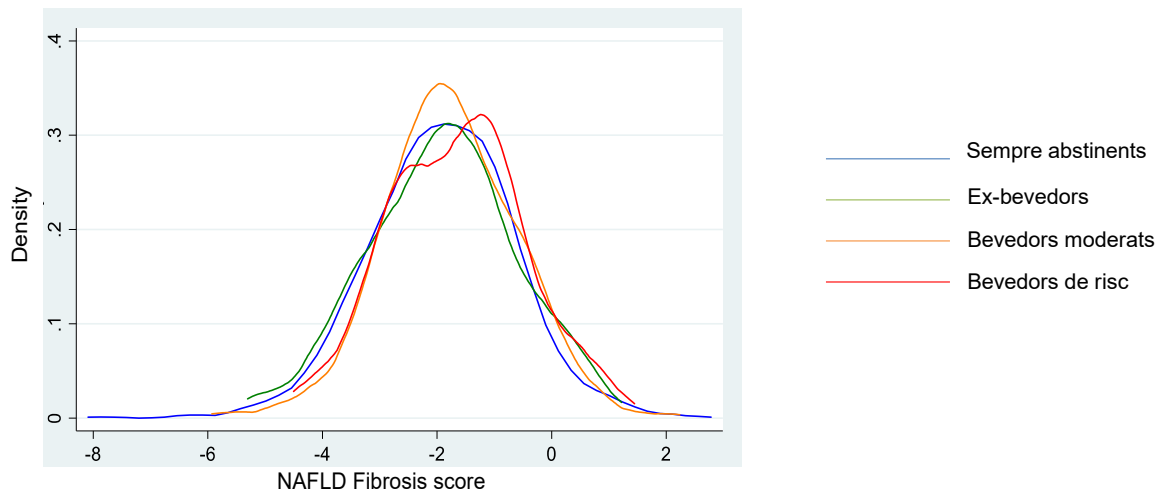


Figura 83. Distribució dels valors de NFS en els quatre grups segons consum d'alcohol.

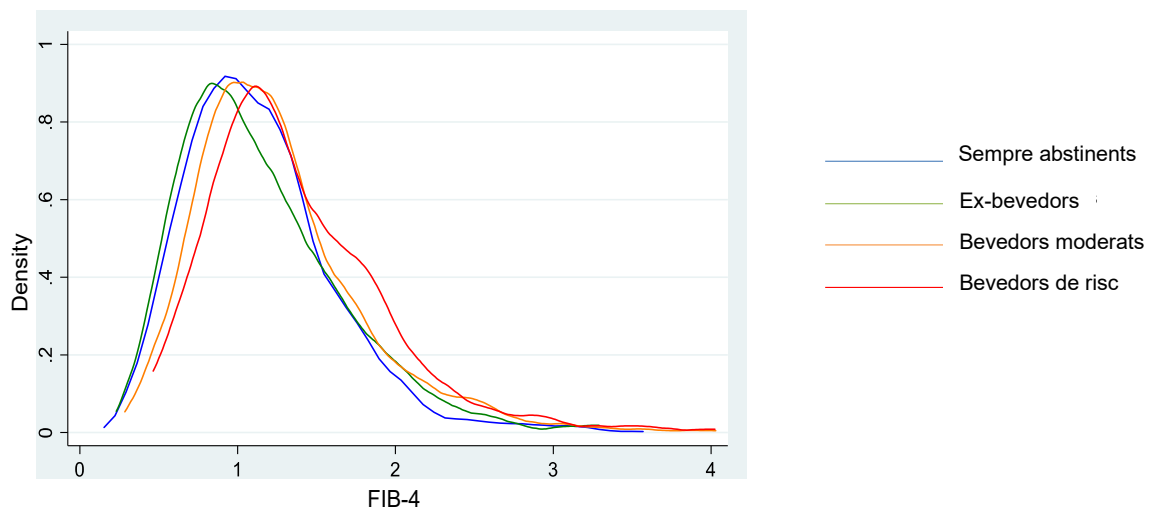


Figura 84. Distribució dels valors de FIB-4 en els quatre grups segons consum d'alcohol.

El grau de fibrosi segons el resultat de la histologia hepàtica es mostra a la taula 76. A 47 dels 109 (43%) subjectes amb consum d'alcohol i EH  $\geq$  8 kPa se'ls va realitzar una biòpsia hepàtica. Set dels 28 (25%) subjectes amb consum d'alcohol de risc i EH  $\geq$  8 kPa van acceptar realitzar la biòpsia hepàtica. Sis dels set pacients tenien F2 o més (dos F4, dos F3 i dos F2), mentre que el pacient restant tenia F1. En el grup de bevedors moderats, 33 (50%) subjectes amb EH  $\geq$  8 kPa van acceptar realitzar la biòpsia hepàtica. D'aquests, 14 (43%) tenien F2 o superior; finalment, en el grup de ex-bevedors, 7 (58%) subjectes van acceptar biòpsia hepàtica i 3 d'ells (43%) tenien F2.

Taula 76. Classificació de la fibrosi segons la biòpsia hepàtica entre els ex-bevedors, bevedors moderats i bevedors de risc amb EH  $\geq$  8 kPa.

	Ex-bevedors n=7	Bevedors moderats n=33	Bevedors de risc n=7
F0-F1, n (%)	4 (57)	19 (57)	1 (13)
F2, n (%)	3 (43)	10 (30)	2 (29)
F3, n (%)	0 (0)	3 (9)	2 (29)
F4, n (%)	0 (0)	1 (4)	2 (29)

### 5.3. Factors associats a la fibrosi hepàtica en subjectes amb consum actual d'alcohol. Relació amb la síndrome metabòlica

A continuació, es va intentar determinar els factors associats a la fibrosi hepàtica, avaluada per EH  $\geq$  8 kPa, en subjectes amb consum d'alcohol. Quan tots els subjectes amb algun tipus de consum d'alcohol es consideraven junts (n=1.760), els factors associats a l'augment de l'EH eren el gènere masculí, la SM i els seus components, AST o ALT  $>$  40 UI/L i la quantitat i durada del consum d'alcohol (taula 77).

Taula 77. Anàlisi multivariant dels factors de risc associats a la fibrosi hepàtica en tots els bevedors.

	OR	IC 95%	p
Sexe masculí	1,94	1,09-3,48	0,025
Consum $>$ 40 UBEs/setmana	2,40	1,13-5,10	0,023
Anys de consum	1,65	1,14-2,40	0,009
Síndrome metabòlica	3,95	2,52-6,20	0,000
Obesitat abdominal	3,62	2,18-6,02	0,000
DM2	2,74	1,67-4,49	0,000
Triglicèrids $>$ 150 mg/dl	1,65	1,05-2,60	0,031
AST i/o ALT $>$ 40 UI/L	2,83	1,76-4,54	0,000

Com que la fibrosi hepàtica era clarament més freqüent en subjectes amb un consum de risc d'alcohol en comparació amb els altres grups, es van investigar específicament els factors relacionats amb la fibrosi hepàtica en aquest subconjunt específic de subjectes i la seva relació potencial amb la SM i els seus components. Com es mostra a la taula 78, els bevedors de risc amb fibrosi hepàtica significativa tenien una prevalença més elevada de SM i els seus components. A més, els valors de transaminases, GGT i ferritina van ser més alts en aquest grup de subjectes.

Taula 78. Característiques basals del grup de subjectes amb consum d'alcohol de risc amb i sense fibrosi significativa avaluat per EH (n=275).

	EH < 8,0 kPa n=247	EH ≥ 8,0 kPa n=28	p
<b>Sexe masculí (n)</b>	189 (77)	24 (86)	0,270
<b>Edat (anys)</b>	56 (10)	60 (8)	0,098
<b>Consum actual d'alcohol (UBEs/set)</b>	28 (13)	36 (25)	0,026
<b>Anys de consum d'alcohol, mitjana</b>	35 (15)	43 (16)	0,013
<b>Síndrome metabòlica</b>	75 (31)	17 (63)	0,001
<b>Obesitat (n)</b>	79 (32)	19 (68)	0,001
<b>Hipertensió arterial (n)</b>	75 (30)	13 (46)	0,084
<b>Diabetis tipus 2 (n)</b>	24 (10)	8 (29)	0,003
<b>AST (UI/L)</b>	26 (11)	32 (11)	0,007
<b>ALT (UI/L)</b>	26 (15)	37 (19)	0,001
<b>GGT (UI/L)</b>	35 (34)	62 (55)	<0,001
<b>Ferritina (ng/mL)</b>	132 (152)	168 (186)	0,050
<b>Fatty Liver Index, mitjana (DE)</b>	59 (28)	84 (16)	<0,001
<b>&lt; 30</b>	44 (19)	0 (0)	0,001
<b>30-60</b>	70 (30)	2 (8)	
<b>≥ 60</b>	123 (52)	23 (92)	
<b>NAFLD fibrosis score, mitjana (DE)</b>	-1,7 (1,2)	-1,2 (1,2)	0,037
<b>Risc baix</b>	127 (55)	11 (48)	0,209
<b>Risc intermedi</b>	97 (42)	10 (43)	
<b>Risc alt</b>	6 (3)	2 (9)	
<b>FIB-4, mitjana (DE)</b>	1,34 (0,54)	1,59 (0,69)	0,038
<b>Risc baix</b>	128 (55)	12 (52)	0,032
<b>Risc intermedi</b>	100 (43)	8 (35)	
<b>Risc alt</b>	6 (3)	3 (13)	

En l'anàlisi multivariant, només la SM i el consum important d'alcohol (definit com > 40 UBEs/set) es van associar de forma independent amb una major fibrosi hepàtica (taula 79).



Taula 79. Anàlisi multivariant dels factors de risc associats a la fibrosi hepàtica en bevedors de risc.

	OR	IC 95%	p
<b>Consum important d'alcohol (&gt; 40 UBEs/setmana)</b>	4,1	1,6-10,1	0,003
<b>Síndrome metabòlica</b>	3,5	1,5-8,1	0,003

La interacció entre l'alcohol i la SM es va investigar específicament en el grup de bevedors de risc. Per abordar específicament si l'efecte de la SM es podria relacionar amb la gravetat del consum d'alcohol, els bevedors de risc es van classificar en dos grups mitjançant un tall arbitrari de 40 UBEs/setmana. Curiosament, la SM va augmentar notablement el risc de fibrosi hepàtica en subjectes amb un consum de risc inferior a 40 UBEs/setmana. Per contra, en subjectes amb consum important d'alcohol > 40 UBEs/setmana, la presència de SM no es va associar amb un augment del risc de fibrosi hepàtica (taula 80).

Taula 80. Prevalença de EH  $\geq$  8kPa en funció del consum d'alcohol i la presència de síndrome metabòlica entre els bevedors d'alcohol de risc (n = 268).

Consum d'alcohol	Síndrome metabòlica		
	No	Si	p
<b>&lt; 40 UBEs/setmana</b>	3/144 (2%)	11/65 (17%)	0,0001
<b><math>\geq</math> 40 UBEs/setmana</b>	7/32 (22%)	6/27 (22%)	

## 6. ANÀLISI DE COST-EFECTIVITAT DE L'ELASTOGRAFIA HEPÀTICA EN LA DETECCIÓ PRECOÇ DE FIBROSI HEPÀTICA EN L'ATENCIÓ PRIMÀRIA.

### 6.1. Dades demogràfiques dels pacients

Dels 6.295 pacients, l'EH es va realitzar amb èxit mitjançant el FibroScan® a 6.199 (percentatge d'errors de l'1,5%) pacients que van ser inclosos en l'anàlisi posterior. La taula 81 mostra las característiques basals de les 6 cohorts. Els pacients tenien una edat mitjana de 54,7 anys ( $\pm$  12,2), un IMC de 27,1 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm$  4,9) i perímetre abdominal de 91 cm ( $\pm$  11,5); 52% eren dones, el 18% fumaven, el 33% eren obesos i el 13% tenia DM2. En total, 3.223 pacients (52%) eren del sud d'Europa, 1.984 (32%) eren d'Europa del Nord i 992 (16%) d'Àsia.

Taula 81. Característiques basals dels pacients dels 6 països inclosos en l'estudi.

	ES n= 3.333	DE n=106	UK n=378	DK n=199	FR n=1.357	HK n=922
Sexe femení, n (%)	1.906 (57,2)	79 (74,5)	123 (32,5)	53 (26,6)	553 (40,7)	533 (57,8)
Edat (anys)	55,0 (12,1)	35,7 (12,8)	61,8 (15,0)	54,9 (11,3)	57,9 (8,95)	48,1 (10,5)
Fumador actual	0,23 (0,42)	n/a	n/a	0,59 (0,49)	n/a	0,10 (0,30)
Hepatitis vírica	0,01 (0,12)	0,02 (0,14)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	n/a	0,00 (0,00)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28,3 (4,91)	24,2 (4,19)	28,5 (5,25)	26,8 (5,27)	26,7 (4,23)	22,8 (3,50)
Perímetre abdominal, cm	94,7 (12,8)	80,3 (11,6)	n/a	n/a	90,0 (11,4)	81,7 (10,1)
Diabetis tipus 2 (%)	10	4	56	2	n/a	4
Obesitat (%)	31	10	35	28	20	3
Hipertensió arterial (%)	26	7	46	28	n/a	16
Glicèmia, mmol/L	6,05 (14,0)	5,12 (0,64)	n/a	6,81 (1,91)	5,75 (1,67)	5,14 (0,92)
Creatinina, (mg/dl)	0,90 (0,24)	0,85 (0,16)	1,02 (0,28)	0,73 (0,17)	0,82 (0,18)	0,75 (0,16)
Colesterol, mmol/L	5,53 (1,03)	4,88 (0,98)	4,61 (1,27)	5,05 (1,24)	5,41 (1,02)	5,16 (1,00)
Triglicèrids, mmol/L	1,24 (0,81)	1,14 (0,63)	1,74 (1,03)	1,54 (1,02)	1,32 (0,89)	1,37 (1,19)
AST (U/L)	23,7 (9,15)	25,1 (8,92)	28,0 (18,9)	n/a	22,6 (14,6)	212,4 (12,2)
ALT (U/L)	23,9 (14,3)	23,5 (11,8)	28,2 (19,3)	40,0 (31,5)	25,3 (15,5)	26,0 (16,0)
GGT (U/L)	33,4 (38,7)	23,3 (17,4)	n/a	226 (392)	37,4 (56,3)	n/a
Bilirubina, $\mu$ mol/L	11,3 (5,08)	8,93 (6,24)	12,0 (5,06)	14,0 (10,9)	n/a	13,5 (5,96)
Albúmina, g/L	44,0 (3,25)	n/a	37,8 (2,92)	40,2 (5,27)	n/a	45,2 (2,58)
Ferritina, $\mu$ g/L	118 (119)	n/a	n/a	267 (384)	165 (179)	n/a
Leucòcits, g/L	9,85 (176)	n/a	7,02 (2,19)	n/a	6,42 (1,83)	6,01 (1,51)
Plaquetes, g/L	243 (60,0)	n/a	241 (62,3)	n/a	251 (59,4)	244 (54,3)
Sonda M, n (%)	3.233 (97,0)	104 (99,0)	338 (89,4)	186 (95,4)	1.357 (100)	922 (100)
Sonda XL, n (%)	96 (2,88)	1 (0,95)	40 (10,6)	9 (4,62)	0	0
Elastografia, kPa	4,94 (2,18)	4,62 (1,57)	7,98 (7,41)	17,2 (20,6)	5,72 (2,36)	4,84 (2,62)

## 6.2. Mesures de rigidesa hepàtica.

La majoria d'EH es van realitzar amb una sonda M (92,3%), mentre que els altres es van realitzar amb sonda XL (7,7%). L'EH mitjana va ser de 5,6 kPa ( $\pm$  5,0 kPa). A la figura 85 es mostren les distribucions de densitat no paramètriques en kPa d'EH en cadascuna de les cohorts incloses. Es pot observar que en la població asiàtica (HK), la distribució d'EH es desplaça significativament cap a l'esquerra en comparació amb les poblacions europees, i només la cohort alemanya va ser comparable en termes de distribució d'EH. Dins de les poblacions europees, els pacients britànics (UK) i danesos (DK) presenten unes distribucions d'EH més esbiaixades d'acord amb el factor de risc, ja sigui FGNA, HA o ambdues de la població. Mentre que les cohorts espanyola (ES), alemanya (DE) i francesa (FR) estaven menys esbiaixades i presenten una distribució una mica més similar.

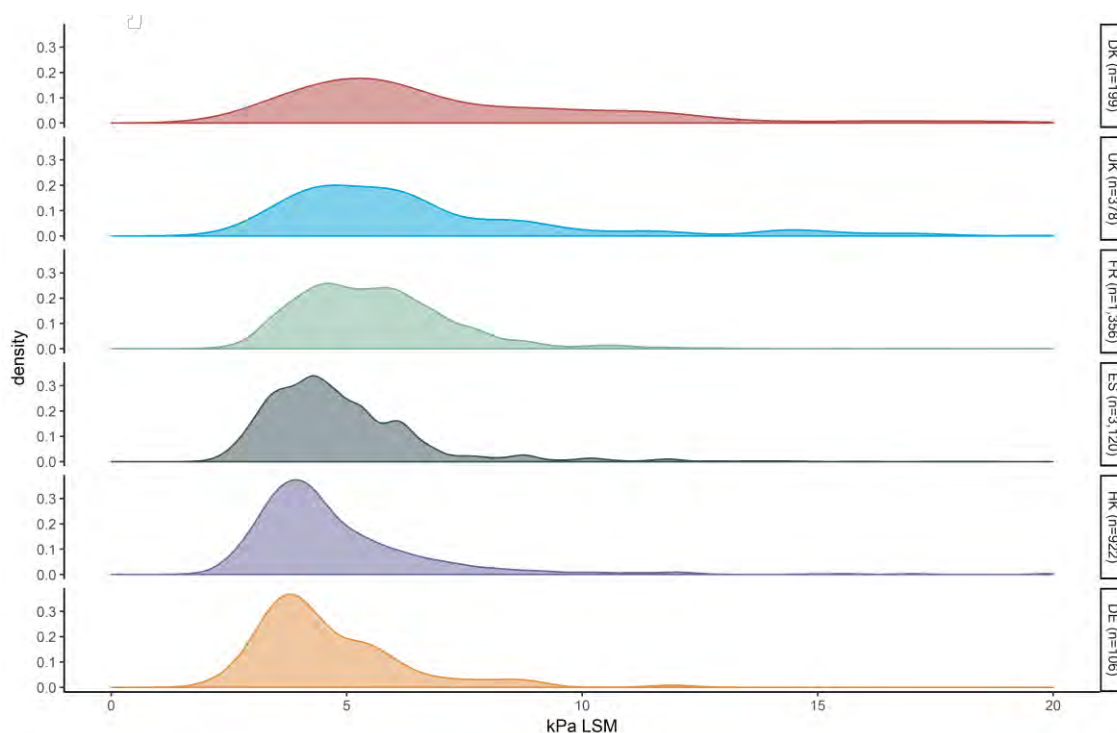


Figura 85. Distribucions d'EH entre les diferents cohorts components.

## 6.3. Grau de fibrosi segons la biòpsia hepàtica i punts de tall d'EH per fibrosi significativa en poblacions generals i de risc.

Dels 299 pacients de les cohorts espanyoles que es tenien que realitzar la biòpsia hepàtica, 101 se l'ha van practicar. En aquest grup, 88 tenien FGNA i 7 van ser diagnosticats d'HA; els pacients restants no tenien alteracions histopatològiques

importants. La distribució dels estadis de fibrosi (segons les puntuacions de Kleiner) va ser del 57% per F0, 15% per a F1, el 21% per a F2, 3% per F3 i 4% per F4. Pel que fa a la cohort danesa, es van incloure 199 amb biòpsia hepàtica. La distribució de la fibrosi va ser del 6% F0, 52% F1, 18% F2, 7% F3 i 18% F4. Pel que fa a la cohort francesa, 89 pacients van presentar una EH >8,0 kPa i 27 van ser sotmesos a biòpsia hepàtica amb una distribució de fibrosi de 4% F0, 30% F1, 33% F2, 0% F3 i 33% F4. Finalment, es van realitzar 25 biòpsies en la cohort de Regne Unit de 98 subjectes amb un EH >8,2 kPa, amb una distribució de fibrosi del 32% F0, 24% F1, 12% F2, 24% F3 i 8% F4.

La figura 86 presenta la distribució d'EH en kPa dels subjectes biopsiats en les diferents cohorts segons els estadis de fibrosi. La distribució del grau de fibrosi en la població general (cohorts ES i FR), població de risc tant per FGNA/HA (cohort del Regne Unit) com la població de risc per HA (cohort DK) difereixen significativament ( $p < 0,001$ ). Els pacients de les cohorts DK i UK van mostrar una fibrosi hepàtica més avançada. En la població general espanyola la distribució de l'EH es concentra als voltants dels punts de tall definits. Per contra, en les poblacions amb HA que s'han biopsiat (UK i DK) els valors d'EH F2-F4 s'aplanen respecte a la població general.

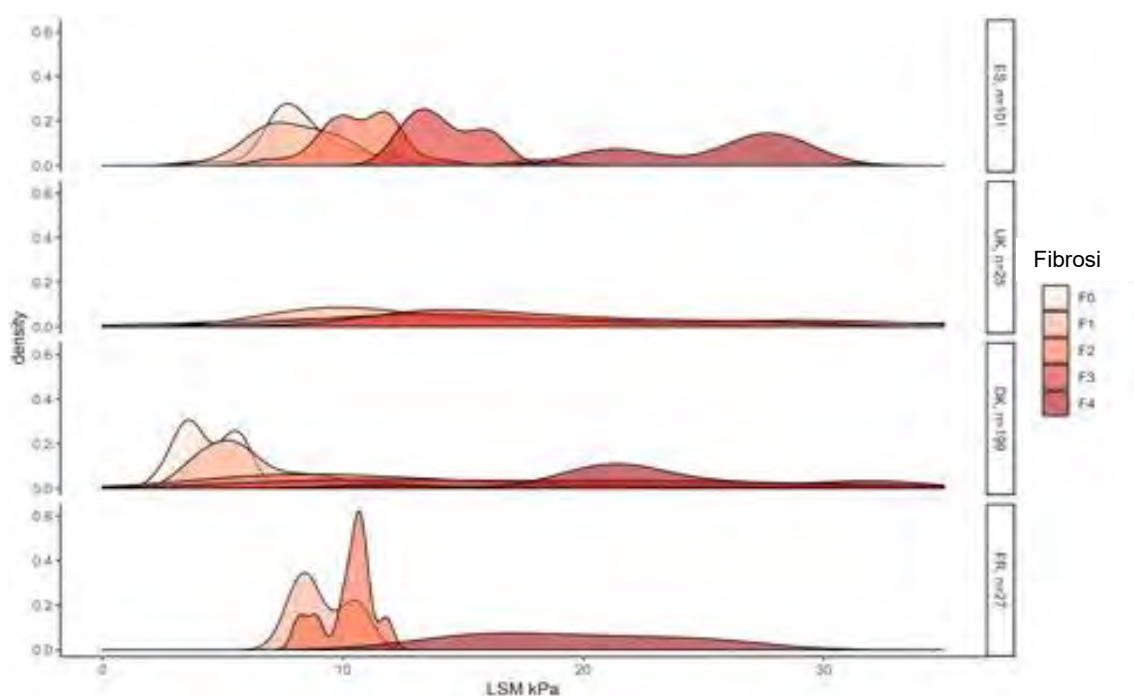


Figura 86. Distribucions grupals d'EH segons el grau de fibrosi entre les diferents cohorts components.

A la taula 82 es mostren les característiques clíniques, demogràfiques i analítiques de les diferents cohorts. En comparació amb la cohort DK, els pacients de les cohorts ES i UK presentaven una prevalença més elevada dels components de la SM i tenien una

major prevalença d'obesitat (72-76% enfront de 28%), HTA (42-60% vs. 28%) i DM2 (28 a 84% enfront de 2%). D'altra banda, els pacients de la cohort DK van mostrar una major prevalença de GGT sèrica, probablement relacionada amb el consum d'alcohol, i concentracions d'albumina sèrica significativament més baixes, el que correspon a la major prevalença de fibrosi significativa en aquesta cohort. Per altra banda, la cohort del Regne Unit que es va biopsiar va presentar una alta prevalença de factors de risc concomitants per FGNA i HA (76% d'obesitat, 84% de DM2, el 76% de consum de risc d'alcohol).

Taula 82. Característiques basals dels pacients de les cohorts components amb biòpsia hepàtica.

	ES n=101	UK n=25	DK n=199	FR n=27	p
Sexe femení, n (%)	33 (32,7)	5 (20)	53 (26,6)	2 (7,41)	0,055
Edat (anys)	58,1 (8,83)	61,1 (10,2)	54,9 (11,3)	59,2 (9,33)	0,003
Consum de risc d'alcohol	0,16 (0,37)	0,76 (0,44)	1,00 (0,00)	0,70 (0,47)	<0,001
Fumador actual	0,24 (0,43)	n/a	0,59 (0,49)	n/a	<0,001
Hepatitis vírica	0,01 (0,10)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	n/a	0,331
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	33,1 (5,30)	33,9 (6,05)	26,8 (5,27)	28,4 (5,89)	<0,001
Diabetis tipus 2	0,28 (0,45)	0,84 (0,37)	0,02 (0,14)	n/a	<0,001
Obesitat	0,72 (0,45)	0,76 (0,44)	0,28 (0,45)	0,33 (0,48)	<0,001
Hipertensió arterial	0,42 (0,50)	0,60 (0,50)	0,28 (0,45)	n/a	0,001
Glicèmia, mmol/L	6,30 (1,69)	n/a	6,81 (1,91)	7,31 (3,52)	0,035
Creatinina, (mg/dl)	0,95 (0,22)	0,99 (0,22)	0,73 (0,17)	0,80 (0,22)	<0,001
Colesterol, mmol/L	5,51 (0,94)	4,06 (1,20)	5,05 (1,24)	5,15 (1,04)	<0,001
LDL colesterol, mmol/L	3,40 (0,95)	1,99 (1,03)	3,09 (1,53)	3,19 (0,82)	<0,001
HDL colesterol, mmol/L	1,26 (0,27)	1,18 (0,34)	1,40 (0,50)	1,28 (0,39)	0,018
Triglicèrids, mmol/L	1,84 (1,09)	2,06 (0,94)	1,54 (1,02)	1,49 (0,98)	0,022
ALT (U/L)	39,1 (25,8)	43,2 (23,3)	40,0 (31,5)	61,3 (53,0)	0,011
GGT (U/L)	63,4 (87,9)	n/a	226 (392)	144 (250)	<0,001
Bilirubina, µmol/L	11,8 (5,24)	10,5 (4,38)	14,0 (10,9)	n/a	0,065
Albumina, g/L	44,2 (5,15)	37,2 (2,55)	40,2 (5,27)	n/a	<0,001
Ferritina, µg/L	206 (221)	n/a	267 (384)	440 (678)	0,152
Elastografia kPa, mitjana	10,4 (5,66)	18,0 (9,09)	17,2 (20,6)	14,0 (8,04)	0,005
Rang interquartil (IQR) elastografia	2,20 (0,64)	3,93 (3,64)	2,22 (3,27)	2,29 (1,66)	0,025
Estadi de fibrosi					<0,001
F0	58 (57,4)	8 (32,0)	12 (6,03)	1 (3,70)	
F1	15 (14,9)	6 (24,0)	103 (51,8)	8 (29,6)	
F2	21 (20,8)	3 (12,0)	35 (17,6)	9 (33,3)	
F3	3 (2,97)	6 (24,0)	13 (6,53)	0 (0,00)	
F4	4 (3,96)	2 (8,00)	36 (18,1)	9 (33,3)	

A continuació, es va avaluar el millor punt de tall per fibrosi significativa (estadi  $\geq F2$ ) al conjunt de pacients amb biòpsies hepàtiques (n=352). A través de CTREE, es va trobar que un límit d'EH superior a 19,1 kPa mostrava una probabilitat condicional del 87,3% per l'estadi de fibrosi  $\geq F2$  i del 57,1% per a l'estadi F4 (cirrosi) independentment de la població estudiada. Per a valors d'EH per sota de 19,1 kPa, es van identificar diferents punts de tall òptims, que depenien de les poblacions estudiades: en la població general (cohort ES), es va trobar que un punt de tall d'EH de 9,1 kPa proporciona la millor precisió diagnòstica amb un VPN del 88,1% per el diagnòstic de fibrosi  $\geq F2$  en pacients per sota d'aquest punt de tall i una probabilitat del 57,6% en pacients per sobre d'aquest punt de tall. La Taula 83 mostra el rendiment diagnòstic complert del model CTREE.

Taula 83. Model CTREE de diagnòstic, validació creuada 5 vegades per 5 repeticions.

	Estadi de fibrosi		
	F0-F1	F2-F3	F4
<b>Prevalença</b>	62,15%	24,92%	12,92%
<b>Sensibilitat</b>	79,01%	54,54%	79,55%
<b>Especificitat</b>	80,17%	83,56%	91,86%
<b>VPP</b>	85,63%	53,15%	62,50%
<b>VPN</b>	71,85%	84,30%	96,34%
<b>Precisió equilibrada</b>	79,59%	69,05%	85,70%
<b>Global</b>	Mitjana	95% IC L	95% IC U
<b>Precisió</b>	70,79%	68,86%	72,72%
<b>P (precisió &gt; NIR)</b>		$3,621 \cdot 10^{-7}$	

En les cohorts amb pacients que tenien antecedents de consum de risc d'alcohol i/o SM (cohorts FR, DK i UK), es va obtenir un punt de tall òptim lleugerament superior per l'estratificació de la fibrosi: amb EH inferior a 9,5 kPa, la probabilitat d'estadi de fibrosi  $\geq F2$  va ser només del 9,7%; amb EH superior a 9,5 kPa, la probabilitat va augmentar al 52,4% per a aquesta població de risc.

Segons el model predictiu desenvolupat, es va predir que un total del 3,9% (n=238) dels pacients de les cohorts de la població general tindrien fibrosi  $\geq F2$ , mentre que es va predir que el 28,8% (n=157) del total de pacients amb risc havien desenvolupat almenys un estadi F2 de fibrosi.

La figura 87 presenta els punts de tall detallats juntament amb l'estructura de l'arbre i les distribucions de les etapes de fibrosi. El CTREE de fibrosi va tenir una mitjana de 5

vegades i 5 repeticions de validació creuada de 3 classes de precisió diagnòstica equilibrada de 70,79% (95 IC 68,9-72,7%), es a dir, en comparació a un model aleatori, CTREE va presentar un augment del 30,7% ( $p < 0,001$ , precisió > sense taxa d'informació).

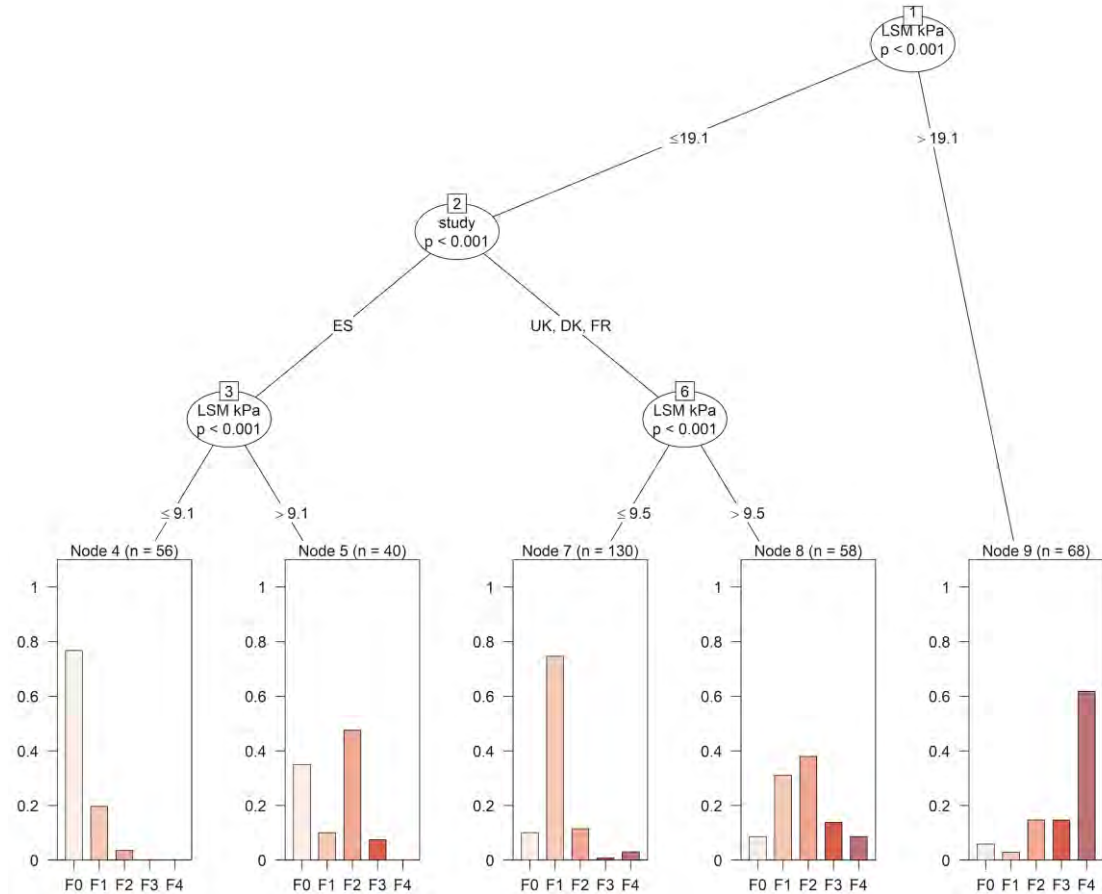


Figura 87. Estadi de fibrosi segons el CTREE i segons els punts de tall de l'EH.

La primera divisió de l'algorisme, l'EH  $> 19,1$  kPa (node 9,  $p < 0,001$ ) mostra una probabilitat que el pacient tingui un grau de fibrosi (F2-F3-F4) del 88% independentment de la població estudiada. Per a valors inferiors a 19,1 kPa, la següent divisió és la població de l'estudi ( $p < 0,001$ ). L'algorisme es diferencia automàticament en funció de les característiques no observades de la cohort ES i les cohorts FR, UK, DK. Les poblacions amb FGNA i HA es divideixen. Per a la població amb FGNA, s'identifica un punt de tall òptim d'EH  $> 9,1$  kPa amb una probabilitat de tenir un grau de fibrosi F2-F3 del 57,6%. Per a la població amb HA, el punt de tall òptim per detectar un grau de fibrosi  $\geq F2$  és de 9,5 kPa amb una probabilitat del 52,4%.

Els marcadors serològics de fibrosi tenien les següents classes de precisió: FIB-4 59,4% (IC del 95% 57,1-61,5%) i NFS 55,5% (IC del 95% 53,3-57,6%). Per tant, en comparació

amb CTREE, FIB-4 i NFS van tenir un 11,4% i un 15,3% menys de precisió, respectivament (ambdós  $p < 0,001$ ).

La taula 84 presenta el nombre necessari per el cribratge (NNS) segons cada cohort i mètode de mostreig de la població. La mitjana del NNS per detectar un pacient amb estadi de fibrosi  $\geq F2$  en la població general va ser de 34,5 pacients, per a pacients obesos 8,5, per a DM2 7,0 i per a pacients amb consum de risc d'alcohol, 12,5. No obstant això, s'ha de tenir cura a l'interpretar aquests resultats, donada l'heterogeneïtat del mostreig de la població entre els diferents estudis.

Taula 84. Nombre necessari de subjectes a fer el cribratge per factor de risc i país.

	Població general		Obesos		Diabètics		Consum de alcohol	
	NNS	95% IC	NNS	95% IC	NNS	95% IC	NNS	95% IC
ES	30,6	25,8-37,5	12,2	10,2-14,1	7,7	6,1-10,5	7,6	6,1-10,1
DE	52,0	21,9-139,6						
UK			2,7	2,2-3,6	3,9	3,1-5,0	5,5	4,5-7,3
DK							2,5	2,1-3,0
FR	29,1	22,6-40,8	10,7	7,6-17,7			21,9	16,4-32,9
HK	26,6	20,0-39,6	8,3	4,0-13,5	9,5	4,9-15,2	25,1	15,0-38,3
Mitjana	34,5	22,6-64,4	8,5	6,0-12,2	7,0	4,7-10,2	12,5	8,8-18,3

#### 6.4. Resultats de cost-efectivitat

Els punts de tall òptims definits en el nostre conjunt de pacients sotmesos a biòpsia es van utilitzar per inferir les taxes de prevalença de fibrosi previstes en cadascuna de les cohorts heterogènies. Aquesta dada real es va introduir en el model econòmic i donats els supòsits del model de cost-efectivitat, es va trobar que la mitjana d'ICER de l'estratègia d'estratificació de risc amb EH va oscil·lar entre 2.570 €/QALY (IC 95% 2.456-2.683) a Espanya per a una població amb risc d'HA (edat  $\geq 45$  anys) a 6.217 €/QALY (IC 95% 5.832-6.601) a l'entorn de la població general de Hong Kong. Si bé hi va haver diferències significatives en els resultats entre països i poblacions, tots els resultats van ser altament rendibles per sota del llindar del producte interior brut per càpita/QALY.

La figura 88 presenta les corbes de supervivència derivades de les probabilitats de transició d'estat. El model estima la diferència en la supervivència ajustada per qualitat entre els pacients diagnosticats i no diagnosticats per cada etapa de fibrosi. L'àrea entre



les corbes de diagnòstic i no diagnòstic és l'efectivitat mitjana en termes de QALY del programa de detecció. La figura 88 il·lustra que, en termes de QALY, els pacients es beneficien de ser diagnosticats en totes les etapes, però aquest benefici és més gran en les etapes  $\geq F2$  en comparació amb F0-1 o F4.

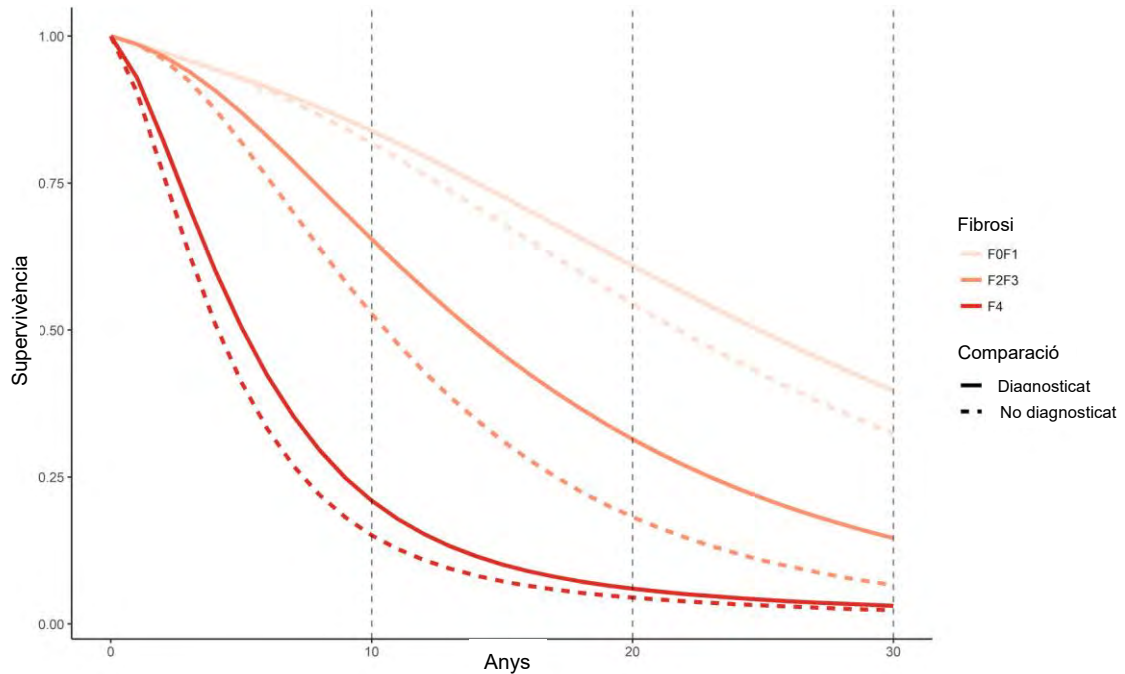


Figura 88. Estimacions de supervivència del model de cost-efectivitat per grup i diagnòstic de fibrosi.

La figura 89 presenta els resultats dels anàlisis de sensibilitat en termes de corbes d'acceptabilitat de cost-efectivitat depenent de la selecció de pacients, ja sigui en funció de factors de risc (obesitat, DM2, alcohol) o en l'entorn de la població general per cadascun dels països. Totes les poblacions presenten una probabilitat mitjana d'estalvi de costos del 12%, destacant els estalvis potencials associats amb la intervenció.

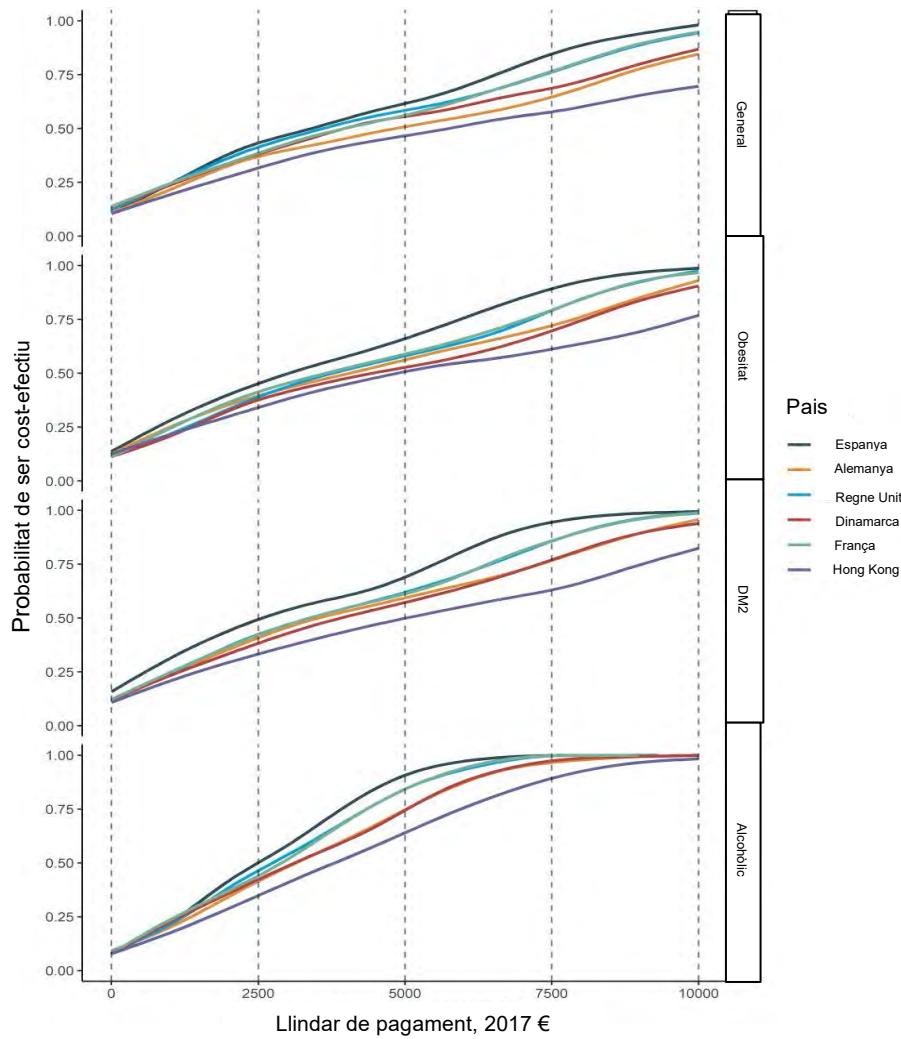


Figura 89. Corbes de cost-efectivitat per país i tipus de població estudiada.

Pel que fa a les estimacions d'ICER en totes les estratègies de mostreig, les poblacions obeses o diabètiques requereixen el 93,2% (IC95%: 91,2-95,3%) i el 85,6% (IC95%: 83,7-87,4%) de recursos, respectivament, en comparació amb la població general, per obtenir el mateix valor en termes de QALYs. És de destacar que en una població en risc d'HA, només requereixen el 65,3% (IC95%: 64,1-66,5%) dels recursos en comparació amb el cribratge de la població general, el que destaca l'eficiència i viabilitat de les intervencions específiques, que depenen en gran mesura de la prevalença de la població objectiu.



## **DISCUSSIÓ**



## 1. MALALTIA HEPÀTICA EN LA POBLACIÓ GENERAL

La detecció de malalties cròniques en la població general, quan aquestes es troben en fases precoces, té molt d'interès per les repercussions clíniques que això suposa per als pacients, alhora que constitueix un benefici important, valorat en mesures de cost efectivitat per al sistema sanitari en el seu conjunt (24,201). Si a més, es pretén detectar precoçment aquelles malalties que són molt prevalents i, que poden suposar una gran morbimortalitat en els seus estadis finals, el benefici encara és superior.

En aquest sentit, la inflamació crònica de fetge, sigui quina sigui la causa, és asimptomàtica en la immensa majoria dels casos, això determina que el diagnòstic de la malaltia no es faci fins a fases molt avançades quan els pacients ja tenen una cirrosi, situació en què la malaltia és irreversible i el tractament del factor etiològic difícil o impossible (260). Per tant, l'estratègia ideal per a la reducció de la morbimortalitat de la cirrosi hepàtica i l'HCC seria identificar els pacients en fases inicials de la inflamació crònica de fetge la qual cosa permetria incidir de manera efectiva en la seva història natural i aturar o retardar la seva evolució. La major dificultat fins el moment actual ha estat el fet de no disposar de mitjans efectius de cribatge per detectar totes les causes d'inflamació hepàtica crònica en fase poc avançada. Habitualment, el diagnòstic es fa a través de la determinació de les transaminases i de l'ecografia abdominal, però malgrat ser unes bones proves diagnòstiques, aquestes no són suficients per detectar precoçment la fibrosi hepàtica. Els darrers anys s'han desenvolupat mètodes diagnòstics no invasius, ja siguin elastogràfics o serològics, que permeten estimar el grau de teixit fibrós present en el fetge i detectar de forma no invasiva l'existència d'una fibrosi hepàtica significativa abans que el pacient desenvolupi una cirrosi o que la cirrosi produeixi símptomes (44,45).

Entre les malalties hepàtiques, el FGNA representa la malaltia hepàtica més freqüent, especialment en els països occidentals, amb una taxa de prevalença molt elevada que segons una recent meta-anàlisi se situa en el 25% globalment (108) i que augmenta fins al 90% en els pacients amb obesitat i el 70% en els pacients amb DM2 (103).

El FGNA a l'atenció primària generalment es diagnostica a través de l'alteració de les proves de funció hepàtica quan es practica una analítica per qualsevol motiu, fins i tot dintre d'un examen de salut rutinari o mitjançant la detecció d'esteatosi quan es practica una prova d'imatge, normalment una ecografia abdominal. És habitual que els metges d'atenció primària sol·licitin proves analítiques davant la sospita clínica de patir algun

procés general o hepàtic. És per això, que moltes vegades s'enfronten a alteracions de les proves hepàtiques sense cap altra sospita clínica. La investigació addicional de la causa subjacent i la possible gravetat de la malaltia hepàtica sovint es deu a la magnitud de l'anomalia en l'anàlisi hepàtica a la sang (339). Encara que aquest enfocament és apropiat quan es fa referència a marcadors de la funció sintètica de fetge, com l'albumina i el temps de protrombina, no ho és quan es relaciona amb els enzims hepàtics, perquè pot existir una malaltia hepàtica substancial en el context de concentracions sèriques d'enzims hepàtics normals o mínimament alterats. Per tant, llevat que hi hagi una causa transitòria òbvia, com la sèpsia o la prescripció temporal concomitant de medicaments, l'atenció s'ha de centrar en la causa subjacent de la malaltia.

Un estudi sobre les causes de l'alteració de les proves hepàtiques en l'atenció primària va revelar que en la majoria dels casos era degut al FGNA o excés d'alcohol (112), i una proporció no menyspreable de subjectes no tenia una etiologia definida. Tot i que els casos sense una etiologia definida poden ser deguts a malalties transitòries, també poden reflectir un consum d'alcohol no manifestat per part del malalt o un FGNA no detectat en l'ecografia abdominal (112,340). En una cohort d'atenció primària (112) de més de 1.000 pacients amb alteració de les proves hepàtiques, en el 26 % dels casos va ser degut al FGNA, mentre que en el 45% restant no es va poder identificar la causa. Un cop arribat en aquest punt és important fer un estudi complet de la possible etiologia (vírica, autoimmunitària, metabòlica) insistint en el possible consum d'alcohol, medicaments i altres tòxics (consum de productes de herboristeria). Un cop descartades les altres causes és planteja la necessitat de derivar els pacients a la medicina especialitzada o bé determinar la presència de possible fibrosi hepàtica amb les eines diagnòstiques disponibles (serològiques i elastogràfiques) com és el cas de la present tesi.

El present estudi revela una prevalença significativa de fibrosi hepàtica, estimada per l'increment dels valors elastogràfics de RH, en una cohort de 3.014 subjectes de 18 a 75 anys, seleccionats aleatòriament de la població general i sense antecedent de malaltia hepàtica coneguda. Les fortaleces de la present tesi són: 1) estudi poblacional; 2) alta taxa de participació dels subjectes elegibles (gairebé dues terceres parts de la població); 3) poder estudiar els diferents marcadors no invasius de fibrosi, serològics i elastogràfics a la totalitat dels subjectes i 4) avaluar la fibrosi hepàtica mitjançant biòpsia hepàtica en una proporció significativa de subjectes amb un increment de l'EH.

Fins on es coneix, les característiques metodològiques el converteixen en el primer estudi de base poblacional de detecció precoç de fibrosi hepàtica i dels factors associats.

A la literatura hi ha pocs estudis que vagin en la mateixa direcció i es tracta d'estudis no del tot poblacionals duts a terme en individus que s'han seleccionat a partir d'anar a les consultes per altres motius i amb una edat per sobre dels 45 anys (124,126,128,341). Com s'ha comentat en la metodologia els participants es van reclutar mitjançant trucades telefòniques a partir de les dades administratives incloses a la base de dades del SISAP, que és el sistema informàtic que s'utilitza en l'atenció primària, i on estan registrats tots els habitants que pertanyen a la zona d'influència on s'ha fet l'estudi. Aquestes característiques fan que l'estudi sigui del tot poblacional. Malgrat que, hi van haver individus que van rebutjar participar, especialment perquè no els interessava participar o perquè no es van poder localitzar (per falta de telèfon, número erroni, per trasllat de domicili), el percentatge de participació va ser força elevat, arribant al 63,2%. Aquesta taxa de participació tan alta, no és comparable a la d'altres estudis pel fet que en aquests el criteri de selecció no va ser poblacional (124,126,128,341). Aquesta característica és molt important per la proximitat i el grau d'empatia que s'estableix a l'atenció primària entre els subjectes i el personal sanitari. A més, en aquest sentit, en l'àrea de influència on s'ha fet el present estudi s'han dut a terme diversos altres estudis similars, tant de prevalença de FGNA (103) com d'arteriopatia perifèrica (342), amb la mateixa metodologia i amb un nombre molt elevat de participants, el que garanteix que l'estudi actual compleixi amb els objectius previstos i sigui representatiu de la població general. A més, amb aquest nombre important de participants les dades obtingudes s'ajusten més a la realitat, no només per l'alta proporció de participació, sinó perquè a més els intervals d'edat cobreixen gairebé tota la població adulta ja que abasta des dels 18 fins als 75 anys.

Aquesta cohort tan important de pacients s'ha pogut fenotipar correctament a través de les variables tant clíniques com analítiques. L'edat mitjana dels individus va ser de  $54 \pm 12$  anys. En el present estudi, al igual que d'altres estudis, l'augment de l'edat s'ha acompanyat d'un valor més elevat de l'EH (126,236,343-346). No obstant això, l'edat no va ser un factor de risc independent associat a l'EH. En general, la incidència de les malalties hepàtiques augmenta amb l'edat, el que explicaria aquesta major prevalença de subjectes més grans amb una EH per sobre de 8 kPa d'alguns estudis (347). Sigui com sigui, en el present estudi l'edat superior als 50 anys s'acompanya d'una major prevalença de la rigidesa, en qualsevol dels punts de tall elastogràfics predefinits. Probablement, pot ser degut a que les propietats elàstiques de fetge poden canviar com a resultat de l'envelliment per diverses raons. En primer lloc, els canvis relacionats en l'arquitectura histològica del fetge poden causar augment de la RH i amb l'envelliment



hi ha una disminució en el flux sanguini hepàtic, el volum hepàtic i el nombre i el volum dels hepatòcits (348,349). En segon lloc, el fetge d'individus més vells pot ser més rígid com a resultat de l'acumulació de col·lagen, ja que han reduït la seva activitat colagenolítica (350). A més, la senescència cel·lular, causada per la disfunció dels telòmers i l'augment del dany mitocondrial i l'estrès oxidatiu, poden augmentar la susceptibilitat al dany hepàtic i reduir la seva capacitat per regenerar-se (347).

El sexe femení va ser predominant en la totalitat de la mostra amb un 57%. Habitualment, en els estudis poblacionals les dones mostren una major predisposició a participar-hi. Els motius poden ser diversos, com un major interès, major disponibilitat horària, menor recel a poder tenir alguna malaltia, etc. En estudis poblacionals previs realitzats en aquest mateix entorn s'observen uns resultats similars (103,342). Aquesta major proporció de dones també ha aparegut en altres estudis (124,126,128,341). No obstant això, el percentatge d'homes s'inverteix a mesura que augmenta el valor de l'EH, sent major, com més gran és la RH. A més, el gènere masculí va ser un factor de risc independent associat a l'alteració de l'EH. Aquestes troballes són concordants amb altres estudis (124,126). És difícil d'especular els motius, si bé els homes acostumen a ser més obesos, presenten un major consum de risc d'alcohol, així com una major prevalença de diversos components de la SM (103,112).

Una dada interessant és l'elevat percentatge de pacients amb obesitat (31%), que si s'afegeix als subjectes amb sobrepès (42%), incrementa el percentatge d'alteració ponderal fins al 73%. A més, l'obesitat abdominal va estar present en el 50% dels subjectes estudiats. Quan es van analitzar aquestes característiques clíniques en funció de l'alteració de l'EH es va poder observar com augmentava de manera significativa a mesura que augmentava l'EH. Tot i que, tant l'obesitat com l'obesitat abdominal es van associar significativament amb l'alteració de l'EH, a l'anàlisi multivariant es va incloure l'obesitat abdominal, atès que forma part de la SM, sent un factor de risc independent associat a l'EH en qualsevol dels tres punts de tall predefinits. Aquest elevat percentatge d'obesitat i obesitat abdominal, així com, la presència d'aquesta última com a factor de risc independent també s'ha observat en els altres estudis esmentats anteriorment (124,126,341). A més, aquesta associació s'observa especialment en els estudis on s'analitzen únicament als pacients amb FGNA (104,112-114). Són de destacar, com una dada rellevant, les diferències observades en relació a l'excés de pes i obesitat que es van trobar en un estudi dut a terme per conèixer la prevalença de FGNA a la població del mateix territori del present estudi. En aquell moment, l'obesitat trobada va ser del 25,2% i el sobrepès del 44%, fent un total de 69,2%. Així mateix, l'obesitat abdominal

va estar present en el 37,6% de les persones estudiades (103). Aquest increment de quatre punts percentuals és una dada demolidora on es confirma la tendència cada vegada més gran de sobrepès i obesitat a nivell global, constituint una epidèmia real amb greus repercussions clíniques (351). Això ens ha d'alertar a prendre serioses mesures per frenar aquest ascens. Si a això afegim, l'augment progressiu de sobrepès i obesitat en l'etapa infanto-juvenil aquesta patologia es pot convertir en un greu problema de salut pública en el futur, amb una gran morbimortalitat (352,353). A més, en l'article citat anteriorment es va observar una prevalença de FGNA del 25.8% i davant les dades mostrades és de preveure que aquesta prevalença cada vegada serà més gran, tal i com indiquen recents publicacions dutes a terme en diversos països on troben prevalences per sobre del 30% (108,119).

La DM2 també va ser un factor de risc independent associat a l'alteració de l'EH. La prevalença global de DM2 en la població de l'entorn és del 10%, així com en el present estudi, i aquesta augmenta en relació a l'alteració de l'EH. Aquestes dades també són coincidents amb altres estudis (124,126,354). Alguns d'ells suggereixen que l'alteració de l'EH estaria influenciada per la presència de DM2 i d'esteatosi. A més, no només es va observar una forta associació entre l'augment de la RH i la presència de DM2 i/o una major RI a la població de l'estudi en el seu conjunt, sinó també en un subgrup de subjectes amb diagnòstic per ecografia de FGNA. En l'estudi de Rotterdam (124) la prevalença d'EH  $\geq 8,0$  kPa en pacients amb FGNA va ser del 8,4%. Com indiquen altres autors, aquestes troballes suggereixen que el FGNA pot ser una variable determinant de fibrosi clínicament rellevant. Tenint en compte que el FGNA serà més prevalent a mesura que envelleix la població, davant l'actual augment de la prevalença tant de DM2 com d'obesitat, i pel fet que la presència d'EHNA s'associa amb un augment de la mortalitat general, cardiovascular i hepàtica, el FGNA es convertirà en un greu problema de salut pública en les pròximes dècades (9,355-357). A més, la diabetis és un factor de mal pronòstic en els pacients amb FGNA (358,359).

La SM es va analitzar segons els criteris de l'NCEP-ATPIII (314), un 28% de la població general la presentava i es va associar de forma significativa amb l'alteració de l'EH. Això era d'esperar vist que els diferents components, de forma aïllada, també es van associar significativament amb l'alteració de l'EH. En l'anàlisi multivariant es va mostrar com un factor de risc independent, si bé en l'anàlisi final es van incloure els components de forma individual. Aquestes troballes són coincidents amb les d'altres estudis publicats, on s'observen uns percentatges de SM similar (124,126). Al igual que en el cas de la DM2, la SM s'ha relacionat molt estretament amb la presència de FGNA (360,361). Això

es deu a la presència de RI, que juntament amb l'obesitat i DM2, es troben presents amb freqüència en els pacients amb EH alterada, constituint un factor estretament relacionat amb la presència de fibrosi hepàtica. D'altra banda, és un factor de risc per al desenvolupament de malalties cardiovasculars i renals en aquests pacients (135,362).

En l'estudi precoç de la presència de fibrosi en la població general mitjançant l'EH i la valoració de la seva causa etiològica, era esperable que una part important dels subjectes presentessin un FGNA. Fins l'actualitat el diagnòstic de FGNA s'ha basat en el resultat de l'ecografia abdominal (116,363). És una tècnica senzilla d'utilitzar, amb un baix cost, si bé, el seu rendiment per al diagnòstic d'esteatosi varia considerablement entre estudis, degut principalment a la seva baixa sensibilitat per diagnosticar esteatosi lleu (<20% dels hepatòcits) (364). A més, pot haver-hi una variabilitat interobservador important. A causa d'aquestes limitacions, si a més afegim la saturació dels Serveis de Radiodiagnòstic que podrien suposar els estudis poblacionals, la seva utilització es troba una mica restringida (288) per aquesta indicació. És per això, que cada vegada més, s'estan assajant nous marcadors que ajudin de forma senzilla a diagnosticar aquesta malaltia. Entre ells cal destacar l'índex FLI que va ser descrit per Bedogni (287) que inclou l'IMC, perímetre abdominal, triglicèrids i la GGT amb uns valors que van de 0 a 100, considerant la presència de FGNA un valor  $\geq 60$ . Les variables que componen aquest índex són fàcils d'obtenir a la pràctica clínica habitual. En el present estudi el 38% de la població general tenien un FLI  $\geq 60$  i aquest percentatge augmentava de manera significativa en els subjectes amb alteració de l'EH. Malgrat que, aquest índex està validat per al diagnòstic de FGNA, generalment s'utilitza l'ecografia abdominal per aquesta finalitat. En el present estudi el diagnòstic de FGNA majoritàriament es va realitzar amb la determinació del FLI, atès que en el moment del disseny del mateix no es va contemplar la realització de l'ecografia abdominal en tots els subjectes, el que pot suposar una sobreestimació del diagnòstic. No obstant això, en un estudi poblacional europeu sobre la capacitat del FLI per al diagnòstic de FGNA en una població de 2.652 subjectes majors de 65 anys, van observar que el FLI presentava una excel·lent fiabilitat per identificar pacients amb FGNA, confirmada posteriorment mitjançant la pràctica d'una ecografia abdominal (288). Més recentment, en un altre estudi poblacional la confirmació diagnòstica es va realitzar mitjançant la pràctica d'una RM per espectroscòpia trobant una precisió diagnòstica més moderada (365). Aquests estudis, especialment el de Koehler (288), reforcen els presents resultats i redueixen les estimacions de biaix en els resultats obtinguts. Tanmateix i, a falta de més estudis, la recent guia clínica de la Societat Europea per l'Estudi de les Malalties del Fetge, no

recomana els marcadors serològics per diagnosticar el FGNA a la pràctica clínica i aconsella la realització de l'ecografia abdominal com a primer pas per al diagnòstic, malgrat les seves limitacions (366).

Els subjectes amb FLI elevat molt probablement presenten una alteració important dels diferents components metabòlics. Això pot atribuir-se al fet que comparteixen una sèrie de mecanismes comuns, incloent alteracions en el metabolisme de la glucosa i dels lípids, RI i factors genètics i ambientals (367,368). Hi ha un augment de la RI a nivell de fetge, el múscul i el teixit adipós que dona lloc a la secreció de citocines proinflamàtiques. Factors ambientals com la dieta, la vida sedentària, la composició de la microbiota, la presència de determinats gens s'associen també a obesitat, diabetis i FGNA (134,369). D'altra banda, hi ha evidències que el FGNA és un factor de risc per al desenvolupament de DM2. Un estudi va comparar subjectes amb FGNA amb controls sense FGNA, tots dos sense DM2, mostrant una major prevalença de DM2 i SM en els subjectes amb FGNA quan van ser reavaluats després d'11 anys (370). D'altra banda, tal com s'ha comentat anteriorment, la DM2 és un factor independent de progressió de FGNA i de desenvolupament de cirrosi (358,371,372). En aquest sentit, és interessant l'estudi de Lòria et al (359), on defineix l'existència d'un cercle viciós entre FGNA i DM2. Inicialment la RI donaria lloc a FGNA i DM2 en els pacients predisposats, i la DM2 a la vegada afavoriria la progressió de la fibrosi i eventualment el desenvolupament de cirrosi i HCC. A més, diversos estudis han evidenciat que el FGNA és un factor de risc independent per al desenvolupament de complicacions micro i macrovasculars en pacients amb DM2 (135,373).

Un 9% de la població de l'estudi tenia un consum de risc d'alcohol, definit per un consum superior a 21 UBEs a la setmana entre els homes i un consum superior a 14 UBEs a la setmana entre les dones. El consum de risc d'alcohol va ser significativament superior en els subjectes que tenien una EH alterada. Aquestes troballes també són consistents amb els resultats d'altres estudis, amb uns percentatges similars (124,126,128,327,341). Si bé, el consum d'alcohol va ser significativament superior entre els subjectes amb EH alterada, aquest no va ser un factor de risc independent en l'anàlisi multivariant. A més, quan es van excloure els subjectes amb consum d'alcohol, les variables que van mostrar significació estadística van ser les mateixes que quan s'inclouïa el consum d'alcohol. Tanmateix, com en altres estudis (124,126,128,327,341), els pacients amb un consum d'alcohol elevat van presentar una mitjana d'alteració de l'EH significativament superior que els pacients sense un consum de risc d'alcohol. És

conegut que el consum d'alcohol, independentment de la quantitat, provoca la presència d'esteatosi hepàtica. El nivell d'alcohol que s'ha considerat en el present estudi són les quantitats que estan reconegudes internacionalment, tot i que de vegades és difícil de definir el consum exacte dels subjectes, especialment entre els homes (109,116,374). Això pot suposar una certa limitació, ja que la mitjana observada de la GGT, marcador analític de consum d'alcohol, va ser de 23 U/L (IQR 18) entre els pacients amb EH alterada, és a dir, que encara que el resultat va ser significatiu, els valors de GGT no van ser excessivament elevats. Determinar el consum d'alcohol suposa habitualment un problema a la pràctica clínica habitual, però, cal fer una bona anamnesi en aquest sentit i poder incidir en el consum, especialment en els pacients amb factors de risc i per a suggerir l'abandonament del consum.

La presència de proves serològiques positives per la detecció de VHB i VHC es va observar en 32 subjectes: 23 amb VHB positiu i 9 amb VHC positiu representant un 0,7% i 0,3% respectivament. Al comparar-lo amb estudis de prevalença en població general, com les dades publicades per Blachier M et al (24), mostren una prevalença similar per VHB (0,5 a 0,7%) i una mica més elevada per VHC (0,13 a 3, 26%) en població europea. En els estudis de Roulot et al (126) i de Koehler et al (124) van trobar una prevalença del 2,7% de serologies positives per VHB i VHC i, en l'estudi holandès dels 22 subjectes que van presentar serologies víriques positives, 16 van ser per VHC. Aquesta baixa prevalença de VHC és coherent amb els resultats d'estudis epidemiològics duts a terme recentment al nostre país, on es detecten prevalences cada vegada més baixes, al voltant del 0,5-0,6% (375). Això es pot explicar, en part, als cribratges que en els últims anys s'estan realitzant en pacients amb factors o conductes de risc, així com per la detecció del VHC ocult, degut a l'existència dels nous antivirals d'acció directa.

En el present estudi a diferència d'altres (124,126,128,327) no s'ha diagnosticat cap pacient que presenti altres malalties metabòliques, independentment del FGNA i l'HA, ni la presència de malalties colestàsiques ni autoimmunes.

Habitualment la presència d'un valor de les transaminases per sobre del valor normal durant més de sis mesos suggereix l'existència d'alguna HC. Un 23% de la població general tenia alteració de les transaminases. Un valor de les transaminases per sobre de 40U/l, que és el valor que el laboratori de referència utilitza per definir si està alterada o no, i un valor per sobre de 80 U/l, que va ser el valor que es va considerar de risc per a derivar i continuar l'estudi a nivell hospitalari, van presentar diferències

estadísticament significatives en relació a l'alteració de l'EH. A més, independentment del seu valor, l'alteració de les transaminases es va mostrar com un factor de risc independent associat a l'alteració de la elastografia en l'anàlisi multivariant. Aquests resultats també van ser coincidents amb els resultats dels altres estudis (124,126,128,327,341). El valor de les transaminases és un aspecte controvertit ja que habitualment s'utilitza com a marcador per valorar la presència de malaltia hepàtica o per valorar el grau de fibrosi (376,377). En les fases inicials de la fibrosi hepàtica poden cursar amb valors absolutament normals (327,378). Això pot ser habitual en pacients amb FGNA on s'ha observat en alguns estudis que gairebé la meitat d'aquests presenten un valor normal de les transaminases. Això té repercussions clíniques importants, tal com es desprèn d'estudis basats en la biòpsia hepàtica, on pacients amb FGNA i transaminases normals presentaven lesions greus (112,201,327). És per això, que des de fa temps diversos autors estan proposant redefinir el valor de la normalitat de les transaminases, especialment l'ALT, amb la finalitat de millorar la seva sensibilitat (201,379). En el present treball es va estudiar la precisió diagnòstica de les transaminases en relació a l'EH i aquesta última va ser clarament més predictiva. No obstant això, les transaminases s'han de continuar tenint en compte tant per al diagnòstic com per al seguiment d'aquestes malalties.

La fibrosi hepàtica es va determinar a través de la pràctica de l'EH. És la forma més ràpida i senzilla de determinar la RH i és el mètode no invasiu més utilitzat per al diagnòstic i seguiment dels pacients amb HC (28,42,97,109,116,241,374). Tanmateix, existeixen molt pocs estudis que hagin investigat la prevalença de fibrosi hepàtica mitjançant l'EH a la població general. D'altra banda, no hi ha un valor definit de l'EH per fer el diagnòstic de fibrosi en aquesta població. A més, les estimacions de prevalença canvien segons el valor d'EH escollit. En aquest sentit, els punts de tall que es van utilitzar estaven en funció de les dades existents a la bibliografia. Així, en l'estudi holandès de Koehler et al (124), sobre una mostra de 3.041 subjectes majors de 45 anys, amb unes característiques similars a la present tesi, i utilitzant el punt de tall de 8,0 kPa, el percentatge de pacients amb fibrosi va ser del 5,6%, pràcticament idèntic al observat en l'estudi actual i la prevalença de la elastografia superior a 13 kPa va ser del 0,6%. A causa de que la població d'estudi en la present tesi va ser de 18 a 75 anys i, tenint en compte que el major percentatge de participació va ser a partir dels 45-50 anys, es va fer una subanàlisi per conèixer la prevalença de fibrosi per sobre de 8 kPa a partir dels 45 anys i la prevalença va ser del 6,9% (IC95% 5,9-8,0) una mica superior a la trobada en el grup holandès. La majoria dels pacients tenien una malaltia per FGNA i la

RH es va correlacionar amb els diferents components de la SM. De forma interessant, la prevalença de elastografia  $>8,0$  kPa en els subjectes amb DM2 que a més tenien signes d'esteatosi hepàtica per ecografia va ser del 17%. En l'estudi de Hong Kong, la prevalença d'EH  $\geq 9,6$  kPa en un total de 922 subjectes d'entre 19-72 anys va ser del 2% (253). A més, en aquest estudi, els autors suggereixen un valor de l'EH de 9,0 kPa com un bon punt de tall per establir el diagnòstic de fibrosi significativa en pacients amb FGNA. Desafortunadament la biòpsia hepàtica no es va realitzar en cap dels dos estudis, per la qual cosa no es va poder avaluar la relació entre l'augment de la RH i la fibrosi hepàtica ni l'etiologia de la malaltia hepàtica. En l'estudi francès, basat en una llarga sèrie de 1.190 individus majors de 45 anys d'edat aparentment sans, els quals van ser seleccionats entre els pacients que acudien als centres d'atenció primària per realitzar una revisió, i no aleatòriament de la població general, la prevalença de subjectes amb una elastografia  $\geq 8,0$  kPa va ser del 7,5% un valor molt suggestiu de fibrosi hepàtica significativa. És de destacar que un 0,7% dels subjectes tenien una EH per sobre de 13 kPa, molt suggestiu de cirrosi hepàtica. La causa més freqüent de la malaltia hepàtica va ser per FGNA seguit de l'HA. L'existència de fibrosi es va confirmar mitjançant biòpsia en dos terços dels pacients amb EH elevada (126). La malaltia hepàtica més freqüent dels tres estudis va ser el FGNA.

En l'estudi actual, les estimacions de prevalença de fibrosi hepàtica significativa van oscil·lar entre el 9% amb el punt de tall de 6,8 kPa, 5,8% amb 8,0 kPa i 3,6% amb 9,0 kPa. Les taxes més altes es van observar entre els subjectes amb factors de risc per FGNA i els subjectes amb major consum d'alcohol. Els factors predictius independents associats amb l'augment de l'EH van ser el sexe masculí i els components de la SM. Les estimacions de l'estudi actual (excloent possibles resultats falsos positius) indiquen que la prevalença de fibrosi hepàtica significativa (F2-F4) entre la població europea d'origen caucàsic, de 18 a 75 anys, sense malaltia hepàtica coneguda, és del 2,61%, i la prevalença de cirrosi és del 0,4%. L'extrapolació d'aquestes dades a tota la població europea (738 milions el 2016) (380) indica que aproximadament 10 milions de ciutadans europeus amb malaltia hepàtica desconeguda tenen fibrosi hepàtica significativa i aproximadament 1,5 milions tenen cirrosi silenciosa. Aquestes xifres són realment preocupants, si tenim en compte que segons les dades de l'OMS, el HCC és el responsable d'aproximadament 47.000 morts a l'any i la cirrosi hepàtica de 170.000 (109).

Una característica distintiva important de la investigació actual en comparació amb estudis previs basats en la població és l'avaluació de la relació entre l'EH i fibrosi

hepàtica segons el que determina l'examen histològic. El millor punt de tall per al diagnòstic de fibrosi hepàtica significativa va ser de 9,2 kPa, amb una sensibilitat del 93% i una especificitat del 78%, de manera que s'identifiquen correctament el 83% dels casos. Gairebé dos terços dels subjectes amb EH 9,2 kPa tenien fibrosi hepàtica significativa, mentre que gairebé tots els subjectes (95,8%) amb EH per sota d'aquest valor tenien només F0 o F1. Aquest valor és similar al 8,7 kPa informat en una investigació recent en pacients amb FGNA (381). Per tant, els resultats suggereixen que l'EH és un mètode valuós per detectar fibrosi hepàtica significativa en subjectes sense malaltia hepàtica coneguda i és útil per detectar fibrosi hepàtica en la població general. El valor del punt de tall de 9,2 kPa sembla prou precís com per definir una fibrosi hepàtica significativa; però, degut al nombre relativament baix de subjectes que es van poder biopsiar, aquests resultats, s'ha de poder validar en futurs estudis prospectius basats en la població abans d'implementar-se la pràctica clínica amb finalitat de detecció.

L'estudi actual demostra que l'EH té una precisió diagnòstica més elevada en comparació amb la determinació dels marcadors serològics (NFS i FIB-4) per la detecció de la fibrosi hepàtica significativa en la població general. Aquests marcadors estan constituïts per una sèrie de variables tant clíniques com biològiques fàcils d'obtenir a la practica clínica habitual. Aquests s'han utilitzat en el diagnòstic de fibrosi de les HC en general i molt especialment en els pacients amb FGNA (109,357,382,383). En general, els avantatges pràctics dels marcadors serològics inclouen la seva elevada aplicabilitat, bona reproductibilitat i disponibilitat generalitzada (384-386). Els marcadors NFS i FIB-4 han estat validats en diferents poblacions obtenint resultats consistents (139) en excloure fibrosi severa i cirrosi, amb VPN > 90% i poden, a més, ser usats com una primera línia de cribratge per identificar subjectes amb baix risc de fibrosi severa.

El NFS, és el marcador serològic que més àmpliament s'ha estudiat i validat en subjectes amb FGNA (253,386-389) i inclou sis variables fàcils d'obtenir (edat, IMC, glucèmia, recompte de plaquetes, albúmina i el quocient AST/ALT). En una metanàlisi de 13 estudis incloent 3.064 pacients, el NFS va presentar una AUROC de 0,85 en la predicció de fibrosi avançada (fibrosi en ponts o cirrosi), de manera que una puntuació <-1,455 va tenir una sensibilitat del 90% i una especificitat del 60% per excloure fibrosi avançada, mentre que una puntuació > 0,676 va tenir una sensibilitat del 67% i una especificitat del 97% per identificar la presència de fibrosi avançada (387). En un altre estudi el NFS va discriminar bé als pacients amb FGNA segons el grau de fibrosi (lleu, moderada o greu) en la predicció de complicacions relacionades amb la malaltia hepàtica, així com, amb la probabilitat de trasplantament o mort (389). En el present estudi 53 subjectes (2,4%)



van presentar uns valors de NFS > 0,676, predictors de presència de fibrosi significativa (F3-F4).

El FIB-4 va ser desenvolupat per predir la fibrosi hepàtica en pacients amb coinfecció per VIH/VHC (40), així, en un estudi de 529 subjectes coinfectats amb VHC, el FIB-4 va permetre la correcta identificació de pacients amb fibrosi severa i cirrosi amb una AUROC de 0,85 i 0,91 respectivament (281). En el present estudi 13 subjectes (0,5%) van presentar uns valors de la FIB-4 > 2,67 predictiu de l'existència d'una fibrosi significativa.

Això era d'esperar d'alguna manera perquè, aquests marcadors es van proposar per diagnosticar o excloure fibrosi avançada i per tant, el seu rendiment per a la fibrosi hepàtica significativa és limitat. El present treball demostra clarament que l'EH té una precisió diagnòstica significativament més gran en comparació amb NFS o FIB-4 per la detecció de fibrosi hepàtica significativa en la població general, el que suggereix que aquests marcadors de fibrosi no són del tot útils per l'avaluació de la fibrosi hepàtica en la població general, si bé, mentre no s'implementin els aparells de elastografia a les consultes d'atenció primària poden servir d'ajuda per poder, en alguns casos, detectar la possibilitat de fibrosi hepàtica. D'altra banda, els enzims hepàtics (AST/ALT) també s'han proposat per detectar malalties hepàtiques en subjectes amb sospita de FGNA (390). Els resultats actuals, mostren que gairebé el 75% dels subjectes amb EH > 9,2 kPa tenien nivells normals d'ALT, això indica que en molts subjectes amb malaltia hepàtica no se'ls hi detectaria el grau de fibrosi si es fessin servir només els nivells d'enzims hepàtics per al cribratge de la fibrosi hepàtica.

La presència de FGNA s'ha estimat utilitzant l'índex FLI, atès que no es va contemplar la pràctica de l'ecografia abdominal. A més, el FLI proporciona una estimació de la quantitat de greix en el fetge (288). Segons els valors de FLI, el 38% de la població tenia esteatosi, com ho indica un FLI  $\geq$  60. Cal destacar que, hi va haver una forta associació entre FLI i l'EH. Així, el 14% dels subjectes amb FLI  $\geq$  60 tenien un valor de l'EH ( $\geq$ 8kPa) en comparació amb només l'1% dels subjectes amb valors de FLI < 60. Un aspecte important, és que el FLI, tot i ser un marcador d'esteatosi, presenta una capacitat predictiva de fibrosi significativament superior que els marcadors serològics NFS i FIB-4, així com de les transaminases. Això, és d'especial importància tenint en compte la senzillesa d'aquest índex i que pot ser utilitzat de forma rutinària en les consultes d'atenció primària davant d'un pacient amb factors de risc de FGNA. Tot i l'aportació important d'aquesta dada, que fins ara no s'havia descrit, es necessiten estudis de

validació per confirmar aquests resultats i tenir en compte aquest índex en els algorismes diagnòstics de FGNA. A més, poden servir d'orientació, atès que no es disposa de proves diagnòstiques com l'EH a les consultes d'atenció primària, per conèixer la progressió de la malaltia i determinar en quin moment s'ha de derivar un pacient a l'especialitzada per si cal completar l'estudi a través de proves d'imatge, elastogràfiques o la biòpsia si cal. L'aportació dels resultats del present treball són de gran utilitat i aplicabilitat clínica.

La present tesi també proporciona informació pel que fa a la possible avaluació de la malaltia hepàtica crònica silenciosa, en particular del FGNA, en el context de la comunitat. En els últims anys, s'ha suggerit estudiar la detecció de fibrosi hepàtica en la població general (42,391-393). Això es basa en els següents principis: 1) la prevalença de FGNA/EHNA en la població general és molt alta; 2) la progressió de la malaltia hepàtica és silenciosa i la cirrosi es diagnostica amb més freqüència en etapes molt avançades, quan es produeix descompensació o HCC, i el tractament és menys eficaç; i 3) la fibrosi hepàtica és el principal indicador de progressió i mort en pacients amb FGNA. Tanmateix, encara no hi ha un acord general sobre si aquest cribratge s'ha d'implementar i quins mètodes s'han d'utilitzar a causa de l'escassetat d'investigacions que avaluen aquest tema i la manca de dades d'estudis poblacionals. Fins ara, les eines de detecció potencialment útils són els mètodes diagnòstics no invasius, en particular els marcadors serològics de fibrosi NFS i FIB-4, ja que les proves hepàtiques estàndard, com ara les transaminases, no són útils per a fins de detecció de fibrosi (42). La utilitat real dels marcadors serològics es basa en els resultats d'estudis epidemiològics, la majoria dels quals s'han realitzat en poblacions de pacients amb FGNA diagnosticats a nivell hospitalari i seguits durant llargs períodes de temps. Així, en un estudi que va incloure 320 pacients diagnosticats de FGNA mitjançant biòpsia, els marcadors serològics de fibrosi, en particular l'índex NFS, es va associar a un major risc de complicacions hepàtiques i de mort (389). En l'estudi epidemiològic de Rochester, un valor augmentat de NFS es va associar amb un major risc de mortalitat tant hepàtica com global durant un seguiment mitjà de 12 anys (394). Finalment, en un estudi que va incloure 14.841 participants en l'Enquesta Nacional de Salut i Nutrició (NHANES III), quatre marcadors serològics de fibrosi (NFS, FIB-4, APRI i Forns) es van relacionar amb un major risc de malaltia i mortalitat hepàtica durant un seguiment de fins a 23 anys (395). És important emfatitzar que, en aquest últim estudi, una proporció significativa de pacients amb baix risc de fibrosi basada en l'avaluació dels marcadors serològics, finalment va morir per complicacions relacionades amb el fetge, el que indica que els

marcadors serològics analitzats poden no ser prou efectius com per descartar la presència de fibrosi hepàtica significativa. Malgrat això, no es pot excloure que alguns subjectes amb factors de fibrosi de baix risc no tinguessin malaltia hepàtica en l'avaluació inicial, sinó que la van desenvolupar més tard durant el seguiment.

Els resultats del present estudi indiquen que la prevalença de fibrosi hepàtica entre els subjectes sense factors de risc per a FGNA és molt baixa, el que suggereix que la detecció no s'ha de fer en aquest grup de subjectes. A més, els resultats confirmen que els marcadors de fibrosi (NFS i FIB-4) tenen VPN alts per al diagnòstic de fibrosi hepàtica i, per tant, són efectius per descartar l'existència de fibrosi hepàtica en subjectes amb factors de risc per a FGNA. A més, i aquesta dada es interessant, de tots els índexs analitzats, el que va tenir el major valor predictiu negatiu, tot i no ser un índex pròpiament dit de fibrosi, va ser el FLI.

Tot i que aquests marcadors demostren la seva efectivitat, els resultats del present estudi mostren clarament que l'EH té una precisió predictiva significativament més gran en comparació amb els marcadors serològics i les transaminases en la detecció de fibrosi hepàtica significativa en la població general. Hi ha poca informació sobre la utilització de l'EH en la població general, i recentment l'Associació Americana de Gastroenterologia recomana la utilització de l'EH, més que altres marcadors serològics com el FIB-4, en la detecció de cirrosi en subjectes amb hepatopatia crònica, si bé no fa cap recomanació en relació a subjectes amb FGNA, degut als biaixos dels estudis valorats, principalment a causa de les limitacions intrínseques en relació a l'exclusió dels subjectes obesos, els mesuraments elastogràfics inadequats o no reeixits (molt comuns entre subjectes amb FGNA) i la utilització en l'anàlisi més per protocol que per intenció diagnòstica. Fins i tot, fa la recomanació d'utilitzar la RM per espectroscòpia com a eina per al diagnòstic de cirrosi en subjectes amb FGNA i alt risc de cirrosi (edat avançada, obesitat, DM2, ALT elevada x2) amb prevalences estimades de cirrosi del 30% (396).

A l'atenció primària és on s'ha de detectar la possible presència de malaltia hepàtica, especialment el FGNA, i disposar d'eines per al diagnòstic precoç és molt important. Fins ara només es disposa de l'ecografia abdominal, i la determinació dels marcadors serològics. Els resultats del present estudi indicarien que disposar de l'EH permetria una aproximació més fidedigna de la presència de fibrosi precoç i ajudaria a prendre decisions clíniques.

Aquests resultats, per tant, suggereixen que l'EH és un mètode valuós per a la detecció precoç de fibrosi hepàtica significativa en subjectes sense malaltia hepàtica coneguda i pot ser una eina útil per la seva detecció en la població general.

Aquesta primera part de l'estudi té algunes limitacions. En primer lloc, la població estudiada era principalment d'origen caucàsic, amb només el 5% dels subjectes d'altres orígens ètnics. Per tant, no sabem si els resultats trobats s'apliquen a altres grups ètnics. En segon lloc, la sonda XL no estava disponible en aquest estudi. L'ús d'aquesta sonda podria reduir el nombre de mesuraments poc fiables d'EH, particularment entre subjectes obesos, i també potser el nombre de resultats falsos positius. A més, hauria estat interessant quantificar la quantitat de greix al fetge mitjançant l'ús del CAP, un sistema que s'acobla al mesurament de l'EH però, aquesta eina no estava disponible. Finalment, com s'ha esmentat anteriorment, hagués estat ideal tenir un major nombre de subjectes amb una avaluació d'histologia hepàtica; però, una taxa de biòpsia hepàtica del 31% és bastant alta per a un estudi de base poblacional en subjectes asimptomàtics amb malaltia hepàtica prèviament desconeguda.

Es pot concloure, d'aquesta primera part que, els resultats d'aquest estudi basat en la població mostren una prevalença inesperadament alta de fibrosi hepàtica significativa, principalment relacionada amb FGNA, en una població urbana europea de 18 a 75 anys amb malaltia hepàtica prèviament desconeguda. Aquestes dades ressalten la rellevància del FGNA com un problema de salut important i suggereixen que s'han de prendre mesures efectives de detecció i mesures preventives i terapèutiques per reduir l'impacte present i futur d'aquesta malaltia en la població.



## **2. DISSENY I VALIDACIÓ D'UN ALGORISME DIAGNÒSTIC DE FIBROSI HEPÀTICA A LA POBLACIÓ GENERAL.**

Poder fer el cribratge de fibrosi hepàtica en les malalties hepàtiques cròniques, atès que és el que determina el pronòstic d'aquests malalts, és un tema de debat i d'estudi des de fa anys. Davant l'alta prevalença de pacients amb FGNA associada a factors metabòlics molt freqüents a les nostres consultes ha fet que cada vegada s'intenti més buscar marcadors o algorismes per detectar els pacients que puguin tenir fibrosi hepàtica. Des de fa uns anys s'està investigant la millor manera de poder fer-ne la detecció. Els resultats del present estudi han demostrat una prevalença cada vegada més elevada de FGNA associada a un elevat percentatge de sobrepès, obesitat i DM2, així com de SM. Per contra, la prevalença de VHC i VHB cada vegada són més baixes, mantenint un percentatge relativament elevat de consum de risc d'alcohol. Els metges d'atenció primària, són els que habitualment veuen pacients amb aquests factors de risc i s'enfronten a aquesta epidèmia de FGNA que s'ha descrit. Es per això, i degut a la falta de pautes estratègiques que ajudin a prendre decisions, tant per al diagnòstic com per la derivació, s'està incidint sobre la importància que té i pot tenir en un futur immediat i, buscar eines d'actuació fàcils d'utilitzar, que ajudin als metges i que beneficiïn als malalts. Fins ara s'han descrit diversos algorismes i tots van en la mateixa línia de detecció. Amb l'algorisme del present estudi s'ha vist com, mitjançant un marcador senzill d'utilitzar, es pot diagnosticar amb una alta probabilitat la presència de FGNA. A més, amb aquest marcador s'evita la realització d'ecografies abdominals en un nombre important de subjectes, ajudant a descongestionar els Serveis de Diagnòstic per Imatge, que ja de per si estan sobresaturats. Com s'ha pogut veure en els resultats, la combinació de pacients amb factors de risc metabòlics, el marcador serològic FLI i la pràctica de l'EH, es diagnostica correctament la majoria de pacients amb fibrosi significativa, reduint molt els pacients a derivar. Aquesta combinació és molt millor que la del marcador FLI amb qualsevol altre dels marcadors serològics de fibrosis, NFS o FIB-4. Malauradament, el problema actual radica en la no disponibilitat dels aparells d'EH en les nostres consultes d'atenció primària. Els resultats han demostrat que l'EH és molt millor que els marcadors serològics. Degut a la no disponibilitat de l'EH, la immensa majoria d'algorismes es basen en els marcadors NFS i FIB-4. Això és degut també, a que són els marcadors més extensament estudiats i validats en diferents poblacions tenint un bon rendiment per excloure fibrosi avançada, amb valors predictius negatius > 90%, i per tant, es pot utilitzar com a cribratge de primera línia per identificar pacients amb un baix risc de fibrosi significativa en entorns on no hi ha proves

complementaries com ara l'EH. El problema d'aquests marcadors rau en la menor eficàcia que tenen per diagnosticar els graus de fibrosi intermèdia.

En base a les troballes de l'estudi actual, s'ha proposat un algorisme per a la detecció de fibrosi hepàtica en l'entorn comunitari, que inclou 3 passos: (1) identificació de subjectes amb factors de risc de fibrosi hepàtica; (2) avaluació del FLI; i (3) EH per mesurar el grau de fibrosi. L'estimació de prevalença de fibrosi hepàtica entre subjectes sense factors de risc de FGNA o sense consum de risc d'alcohol va ser molt baixa (0.4%); per tant, d'acord amb els resultats, els subjectes sense factors de risc no han de ser avaluats. El segon pas s'ha d'aplicar als subjectes amb factors de risc i consisteix a utilitzar un sistema de puntuació amb un gran VPN per identificar els subjectes amb una probabilitat molt baixa de fibrosi hepàtica significativa que no requeririen detecció. El millor marcador va ser el FLI, que diagnostica d'una manera no invasiva la quantitat de greix en el fetge (287), mentre que els marcadors NFS i FIB-4, malgrat ser marcadors de fibrosi no van ser millors que el FLI. D'aquesta manera dels 3 models emprats el FLI és el que discrimina millor la presència de fibrosi significativa. Finalment, el tercer pas consisteix en realitzar una EH a tots els subjectes d'edat entre 18-75 anys amb factors de risc de fibrosi hepàtica i  $FLI \geq 60$ . Segons els resultats, i tal com s'ha observat en altres estudis (124,125,128), el llindar d'edat podria augmentar-se a 40 a 50 anys a causa de la baixa prevalença de fibrosi hepàtica en subjectes menors d'aquesta edat. Els subjectes amb  $EH < 9,2$  kPa no s'han de derivar a una consulta d'hepatologia ja que tenen una probabilitat molt baixa de fibrosi hepàtica significativa. Aquests subjectes han de ser controlats en l'atenció primària tant per els metges de família com per personal d'infermeria i inscrits en programes específics de modificació de canvis d'estil de vida (109,116,397,398). Per contra, els subjectes amb  $EH \geq 9.2$  kPa han de ser derivats a la medicina especialitzada per tal de confirmar la sospita diagnòstica mitjançant els seus criteris, fer-ne el seguiment i si cal incloure'ls en algun assaig clínic farmacològic. La viabilitat d'aquesta intervenció de salut pública dependrà del grup objectiu, de manera que si s'aplica a la població general, el nombre de subjectes necessaris per diagnosticar correctament un nou cas de fibrosi significativa és d'aproximadament 36.7 individus i, amb les estimacions de prevalença actuals i dins de l'algorisme proposat, aquest nombre disminueix a 13.8, el que representa un guany d'eficiència de 2,65 vegades pel que fa al primer escenari.

Per tal de confirmar aquests resultats es va voler fer la validació del present algorisme. Per això, es van estudiar un total de 3.304 subjectes que tinguessin una edat igual o superior als 45 anys i que tinguessin com a mínim un o més factors de risc de malaltia

hepàtica crònica. El fet d'incloure pacients per sobre dels 45 anys va ser degut, com s'ha comentat, a la baixa prevalença de fibrosi en pacients amb edat inferior als 45 anys en el present estudi. Els subjectes seleccionats tenien unes característiques demogràfiques i clíniques similars a l'estudi original. Els resultats van ser molt similars i equiparables a l'actual estudi. De manera que, de cada 1.000 subjectes entre 40 i 75 anys s'hauria de fer l'EH entre 360 i 390 pacients dels quals entre 20 i 40 serien positius i s'haurien de derivar a la medicina especialitzada. Entre 2 i 4 pacients amb fibrosi no serien detectats. Aquestes troballes són molt rellevants, ja que, per primera vegada s'ha fet una validació de l'algorisme amb un nombre important de subjectes i aquesta validació avala els resultats que obtinguts originalment. Això, junt amb l'anàlisi de cost-efectivitat que s'ha fet sobre l'aplicació de l'EH a l'atenció primària, podrà ajudar en un futur, esperem que no massa llunyà, a poder disposar d'aquesta eina diagnòstica a les nostres consultes.

Ja se sap que la millor manera de fer el diagnòstic del FGNA i la presència de fibrosi és mitjançant la pràctica d'una biòpsia hepàtica. Vistes les seves limitacions d'aplicació, es necessiten estratègies alternatives per estratificar la malaltia hepàtica. Les proves d'imatge i els marcadors serològics són cada vegada més útils, especialment quan la malaltia està avançada, ja que ajuden a avaluar l'estadi de fibrosi, ajuden a establir el pronòstic de la malaltia hepàtica i, en última instància, guien les decisions clíniques. En aquest sentit, els marcadors serològics són proves simples, accessibles i reproduïbles amb un bon rendiment diagnòstic. Malgrat tot, l'EH és superior als marcadors serològics en l'avaluació no invasiva de la fibrosi hepàtica en les hepatopaties en general, i en el FGNA en particular (339).

En general, una de les principals raons de la falta de programes de diagnòstic precoç de les malalties hepàtiques cròniques és la manca d'eines diagnòstiques que ho permetin. Fins i tot, quan es detecten valors elevats d'enzims hepàtics en l'atenció primària, no s'han implementat algorismes diagnòstics per a la identificació de pacients amb fibrosi o cirrosi hepàtica significativa. A més, encara desconeixem fins a quin punt es milloraria el resultat dels pacients amb fibrosi avançada o cirrosi en l'etapa asimptomàtica mitjançant un programa de detecció precoç. Aquest és un punt molt important i motiu de justificació, en part, d'aquesta tesi. Ja s'ha dit que les malalties hepàtiques són molt prevalents, però les eines diagnòstiques de que es disposen, com ara el valor de les transaminases i l'ecografia abdominal, sent molt bones eines no són suficients per establir el diagnòstic i conèixer el grau de fibrosi que un pacient pot tenir. També s'ha comentat, que moltes vegades les malalties hepàtiques cursen amb un valor



normal de les transaminases, especialment en els pacients amb FGNA. D' altra banda, amb el canvi de paradigma en el diagnòstic de la cirrosi, és més necessari que mai trobar aquelles eines i guies d'actuació, mitjançant algorismes que puguin ajudar a prendre decisions.

Els resultats mostren una baixa prevalença, menor del 1%, de pacients amb hepatopatia crònica VHB i VHC, un 9% eren bevedors de risc i un 38% presentaven FGNA. Aquesta elevada prevalença de FGNA fa necessari estudiar la població amb factors de risc mitjançant el FLI que, a la vegada s'ha comportat com un bon marcador amb una capacitat diagnòstica de fibrosi superior als marcadors serològics específics i les transaminases. A més, el control del FGNA en l'atenció primària consisteix en el seguiment i tractament de les comorbiditats metabòliques per reduir el risc cardiovascular, que també pot prevenir el desenvolupament futur d'EHNA i fibrosi. Les intervencions sobre els canvis d'estil de vida amb dieta i exercici són un primer pas molt important per a tots aquests pacients. Així, en un estudi (195) es va veure com, una pèrdua de pes del 10% es va associar amb la resolució de l'EHNA en el 90% i la millora de la fibrosi en el 45% dels pacients. La cirurgia bariàtrica és una altra opció eficaç en pacients seleccionats amb obesitat mòrbida (399), i la pràctica d'exercici regular redueix el greix visceral i hepàtic, fins i tot en absència de pèrdua de pes (400).

A la literatura existeixen altres estudis que han proposat diversos criteris de diagnòstic i de derivació. Així, el grup de Nottingham (401) va utilitzar (i) un índex AST/ALT elevat  $\geq 0,8$ , (ii) un consum de risc d'alcohol o (iii) un FLI  $\geq 60$  com a criteris per a la derivació des de l'atenció primària a l'hospitalària per realitzar una EH i intervenció breu en canvis d'estil de vida; en aquest cas, el 23% de 968 pacients presentava valors de EH  $\geq 8$  kPa, dels quals el 39% haurien passat desapercebuts de no haver seguit aquesta recomanació (402). Una forma d'estratificació similar però usant el marcador serològic APRI en l'atenció primària amb la pràctica d'una EH posterior s'està provant d'implementar en el programa SEAL a Alemanya (403).

La precisió diagnòstica de la combinació de marcadors serològics i EH per valors indeterminats o alts (393) s'ha avaluat en un estudi retrospectiu en 759 pacients amb diagnòstic de FGNA confirmat per biòpsia en nou països asiàtics (404). Utilitzant les combinacions de NFS o FIB-4 + EH, es van observar grups de fins un 10% de pacients amb fibrosi avançada i una zona grisa d'EH de 10 a 15 kPa, resultats indeterminats / discordants o classificació errònia al voltant del 7% cadascun. Per contra, en els grups amb més del 24% dels pacients amb fibrosi avançada, l'EH sola amb un punt de tall de

10 kPa va mostrar la major precisió, amb un 18% dels pacients encara mal classificats, però no va ser necessària una biòpsia hepàtica. Aquestes troballes indiquen que, a diferència de les cohorts de malalties hepàtiques cròniques, pel cribratge poblacional, la forma multimodal en diversos passos, podria ser més eficaç que l'EH sola. En aquest sentit, es va avaluar un algorisme de detecció en dos passos per a fibrosi avançada i cirrosi, des de l'atenció primària per a pacients amb FGNA en un estudi de cohort longitudinal portat a terme en centres de salut de Londres (405). Es van incloure un total de 1.452 pacients per rebre tractament i es van comparar amb 1.560 pacients sense tractament. Amb un valor de FIB-4 > 3.25, el pacient va ser derivat per avaluació especialitzada. Quan el FIB-4 tenia un valor indeterminat (entre 1,30 a 3,25) es va afegir el marcador serològic ELF per diferenciar si un individu pot tenir risc de fibrosi avançada (ELF > 9.5) o no. Aplicant aquest algorisme, es van detectar cinc vegades més casos de fibrosi avançada i cirrosi i, les derivacions innecessàries des de l'atenció primària a l'especialitzada es van reduir en un 81% durant el període d'avaluació i en gairebé un 90% en comparació a les derivacions abans de la introducció de l'algorisme. Finalment, aquest ús seqüencial del FIB-4 + ELF (o EH) també va mostrar una disminució de les derivacions i estalvi de costos (406).

D'altra banda, hi ha autors que han proposat estratègies de diagnòstic especialment per l'atenció primària, així com d'aplicació en diferents serveis hospitalaris pel diagnòstic i derivació dels pacients amb FGNA. La majoria d'ells proposen que, un cop fet el diagnòstic de fetge gras bàsicament mitjançant l'ecografia abdominal, s'estudiï la presència de fibrosi amb els marcadors NFS o FIB-4. Dels dos marcadors serològics, la majoria dels grups proposen utilitzar el FIB-4 atès que les variables que el componen són més senzilles de determinar. Segons aquests algorismes, els subjectes amb FGNA i valors baixos dels marcadors s'han de continuar controlant a les consultes no especialitzades, incidint amb canvis d'estil de vida i tractament dels factors associats i repetir les determinacions entre 1 i 2 anys després. Els pacients amb valors elevats dels marcadors s'han de derivar a l'especialista per acabar de fer el diagnòstic. El problema, com sempre, està en la zona gris o intermèdia; de manera que, en aquests casos s'han de derivar per poder fer el diagnòstic, en la majoria dels casos mitjançant l'EH (115,310,366,407- 411). Alguns autors proposen a l'hora de determinar els marcadors fer també l'EH (412,413). Per últim hi ha autors, la majoria anglesos, que proposen en el cas de valors intermedis realitzar el marcador ELF, com a pas previ abans de derivar i realitzar l'EH (138,339,382,414,415).

Es van aplicar els algorismes basats en els marcadors NFS i FIB-4 en els 3.014 subjectes i els resultats no van ser millors que l'algorisme proposat. S'ha observat que el que realment discrimina és el fet de ser sospitós de malaltia, es dir de tenir factors de risc de malaltia hepàtica crònica. A més, el NFS era millor predictor de fibrosi que el FIB-4. Per tant, l'algorisme basat amb el FLI és el millor per fer la detecció de fibrosi en subjectes amb factors de risc a la població general.

Recentment en el nostre entorn, i per iniciativa de la Societat Catalana de Digestologia, amb el suport i recolzament de les Societats Catalanes d'Endocrinologia i Nutrició, Medicina Interna, Medicina Familiar i Comunitària i l'Associació Catalana de Diabetis, s'han proposat per consens una sèrie de recomanacions per la detecció, diagnòstic, i seguiment de la malaltia per FGNA tant a l'atenció primària com hospitalària, per tal d'aclarir i establir unes pautes d'actuació. Això ha conduït a l'elaboració de dos estratègies diagnòstiques, tant des de la l'atenció primària com des de l'especialitzada. A diferència dels algorismes proposats, es va acordar fer el diagnòstic de FGNA en aquells pacients amb factors de risc mitjançant el FLI. Es deixava la possibilitat de fer ecografia abdominal davant la sospita de malaltia clínica o bé per alteració de les transaminases. De manera que als pacients amb FLI <60 se'ls hi faria el seguiment cada 2-3 anys amb determinació d'aquest mateix índex. Als subjectes amb FLI  $\geq 60$  se'ls hi determinava els marcadors serològics de fibrosi NFS o FIB-4 de manera que si presentaven un valor de risc baix de fibrosi es continuaven controlant a les consultes promovent canvis d'estil de vida i control dels factors associats i repetir els marcadors cada 2-3 anys. Mentre que aquells amb valors indeterminats o elevats s'havien de derivar per tal de realitzar una EH (416). Davant la falta de disponibilitat de l'EH a l'atenció primària, es va optar per seguir les recomanacions internacionals, i un cop fet el diagnòstic de FGNA, determinar els marcadors de fibrosi descrits. Es va valorar d'incloure, com suggereixen alguns grups anglesos, el marcador ELF com a pas previ a derivar un pacient i, es va desestimar per què no millora el rendiment de l'EH, té un valor econòmic elevat i no es troba disponible en el serveis de bioquímica del nostre sistema de salut i com s'ha vist en els resultats no millora el rendiment dels marcadors serològics ja coneguts. De manera que, amb els resultats obtinguts en el present estudi mitjançant l'algorisme proposat i la seva validació, és una bona estratègia per fer el cribatge i seguiment d'aquets pacients. Actualment, i arrel dels resultats del present treball, s'està portant a terme un estudi internacional a nivell europeu (LiverScreen/Horizon 2020) on el nostre grup participa com a co-lider, i es vol reclutar un total de 30.000 subjectes de la població general per estudiar la presència de fibrosi.

S'espera fer un total de més de 500 biòpsies per tal de poder contrastar el resultat elastogràfic amb l'histològic. Probablement aquest estudi podrà recolzar els resultats del present estudi i permetrà reafirmar la importància de l'EH per el diagnòstic precoç de la fibrosi hepàtica en la població amb factors de risc i poder estar disponible a tots els nivells assistencials.

Altres societats com la Societat Europea per l'Estudi de les Malalties Hepàtiques (EASL)(116) recomanen l'ús dels marcadors serològics per descartar fibrosi avançada en pacients amb FGNA i concentracions normals de les transaminases. D'altra banda, recomanen derivar directament a l'especialista aquells pacients amb alteració de les transaminases sense una avaluació prèvia de fibrosi mitjançant els marcadors serològics. Les directrius de la Associació Americana per Estudi de les Malalties del Fetge (AASLD) (109) estableixen que els marcadors NFS i FIB-4 són eines clínicament útils per identificar (en lloc de descartar) fibrosi, tot i el VPP baix que presenten aquests marcadors, però, no hi ha recomanacions específiques de com fer un enfocament gradual. Per contra, la Societat Britànica de Gastroenterologia, al igual que la Societat Catalana recomanen l'ús de NFS o FIB-4 com a primer pas en tots els pacients diagnosticats de FGNA. Els pacients amb risc baix de fibrosi s'han de seguir i tractar en l'atenció primària, mentre que els pacients amb risc alt han de ser derivats directament a l'atenció especialitzada. Els pacients amb risc indeterminat s'han de sotmetre a proves de segon nivell com ara l'ELF o l'EH, segons la disponibilitat i grau d'experiència (382). El National Institute for Health and Care Excellence (NICE) va considerar que els marcadors de fibrosi eren útils en el FGNA, tot i que va concloure de manera controvertida que només l'ús de l'ELF era la prova més rendible (417). Aquesta recomanació probablement es va veure influenciada pel fet que la precisió diagnòstica d'ELF es va extrapolar d'un estudi pediàtric (418) de 112 pacients on van trobar una sensibilitat del 100% i una especificitat del 98%. Tapper i col·laboradors (419) van comparar la rendibilitat de NFS, EH, una combinació de NFS i EH, i la biòpsia hepàtica, i van trobar que el NFS sol o en combinació amb l'EH eren les opcions més cost-efectives, segons l'escenari utilitzat.

A la vista dels resultats del present treball i la inquietud per part de molts grups científics, hi ha una necessitat urgent de canviar el paradigma del diagnòstic de la malaltia hepàtica crònica, de manera que, la situació òptima seria diagnosticar els pacients precoçment dintre del curs natural de la malaltia, quan tenen fibrosi sense cirrosi o en l'etapa de cirrosi compensada. Aquest canvi permetria aplicar teràpies específiques que poden frenar la progressió de la fibrosi en alguns pacients i evitar que arribin a l'etapa de cirrosi

descompensada o desenvolupin HCC. Aquest nou enfocament requeriria la identificació de pacients asimptomàtics mitjançant l'aplicació de mètodes d'avaluació no invasiva de la fibrosi a una gran part de la població, particularment a subjectes amb factors de risc de malaltia hepàtica crònica. Per tant, l'evidència actual suggereix que aquest enfocament innovador, de diagnòstic precoç, de la malaltia hepàtica crònica s'ha de fer mitjançant la detecció de la presència de fibrosi hepàtica en una gran part de la població fent anar mètodes simples no invasius.

No obstant això, hi ha una sèrie de qüestions que s'han d'estudiar detingudament abans d'implementar una detecció massiva de fibrosi hepàtica. En primer lloc, és important comparar els diferents mètodes no invasius per identificar l'estratègia més rendible. La majoria dels estudis realitzats fins ara, on és comparen diferents mètodes no invasius, s'han realitzat en cohorts de pacients de centres especialitzats amb alta prevalença de fibrosi hepàtica. Els estudis s'han de fer en l'entorn comunitari on la prevalença de fibrosi hepàtica és molt menor. És important destacar que l'eficàcia dels mètodes no invasius per detectar fibrosi hepàtica significativa s'han de comparar amb el resultat histològic. Una vegada que s'han identificat els millors mètodes no invasius, s'han de dissenyar vies de diagnòstic per a la seva avaluació en la comunitat i calcular la seva cost-efectivitat. Aquestes vies de diagnòstic és fonamental portar-les a terme en l'atenció primària, tenint en compte la situació i les necessitats en cada entorn o país específic. El present estudi ha completat, en part, l'estratègia ideal, en el sentit que ha mostrat que des de l'atenció primària es poden detectar els pacients amb factors de risc, fer de manera senzilla el diagnòstic de FGNA i en funció d'aquest realitzar una EH. A més l'estudi realitzat de cost-efectivitat ha demostrat que una estratègia de detecció precoç de fibrosi hepàtica en l'atenció primària mitjançant l'EH és cost-efectiva. Malgrat totes aquestes evidències, malauradament no es disposa de l'EH en les consultes d'atenció primària. És d'esperar que en estudis futurs es vagin consolidant resultats similars que permetin aplicar aquestes eines diagnòstiques a l'atenció primària. Per altra banda, una millor comprensió de les vies genètiques i moleculars en el desenvolupament de la fibrosi hepàtica i l'ús de plataformes d'intel·ligència artificial poden trobar millors proves serològiques per a la fibrosi hepàtica. Donades les grans poblacions que potencialment requereixen detecció, és probable que les proves serològiques com a triatge inicial siguin les més fàcils d'implementar. Finalment, els efectes a llarg termini de les estratègies de detecció, seguides pel tractament precoç dels pacients amb malaltia hepàtica crònica, s'han de continuar comparant amb el resultat histològic, amb l'objectiu

d'avaluar si la detecció precoç identifica les lesions hepàtiques clínicament importants de manera correcta (420-422).



### 3. MARCADORS SEROLÒGICS DE FGNA

La presència d'esteatosi s'ha estimat utilitzant l'índex FLI, atès que no es va contemplar l'estudi a través de la pràctica de l'ecografia abdominal. També s'ha esmentat que el FLI proporciona una estimació de la quantitat de greix en el fetge (288,423). S'han volgut estudiar i comparar els diferents marcadors serològics indicats per fer el diagnòstic de fetge gras i veure quin d'ells seria el millor per la seva utilització a l'entorn de l'atenció primària. Atès que amb el FLI hi havia una bona correlació amb l'EH també s'ha estudiat la relació dels diferents marcadors serològics d'esteatosi amb l'EH i els diferents marcadors serològics de fibrosi.

Els marcadors que es van estudiar a banda del FLI van ser el HSI i el LAP. Aquests marcadors estan constituïts per diferents variables tant clíniques com bioquímiques fàcils d'obtenir en la pràctica clínica habitual. Hi ha pocs estudis poblacionals que hagin estudiat l'eficàcia d'aquests marcadors pel diagnòstic dels pacients amb FGNA (108,288,424). Aquests marcadors s'han validat de forma independent en diversos estudis i els seus resultats diagnòstics són difícils de comparar ja que han estat dissenyats i comparats amb diverses proves diagnòstiques com ara la biòpsia hepàtica, l'ecografia abdominal o la RM per espectroscòpia (425-428). Tanmateix, quan es van comparar retrospectivament en una cohort de 324 pacients amb sospita de FGNA mitjançant la biòpsia hepàtica, la seva àrea sota la corba ROC en el diagnòstic d'esteatosi (>5%) no va diferir entre ells essent els valors de 0.83, 0.80 i 0.81, respectivament (426). Cadascun d'ells resulta fàcil d'aplicar si bé el FLI és el més senzill i a més reflecteix mitjançant les seves variables components les característiques metabòliques responsables de la presència de FGNA. Segons els valors de FLI, el 38% de la població tenia esteatosi com ho indica un FLI  $\geq 60$ . La resta de marcadors també es van comportar d'una manera similar i la correlació entre els 3 va ser elevada, del 0,79 i del 0,72, respectivament. A més, també es va trobar una bona correlació entre els diferents marcadors i l'alteració dels valors de les transaminases. D'altra banda, l'ecografia abdominal és la prova més acceptada per fer el diagnòstic de FGNA (366,429). En el present estudi no es va contemplar fer l'ecografia a tots els subjectes de manera rutinària. Només es va realitzar en aquells subjectes que segons els objectius es tenien que fer la biòpsia hepàtica, però que finalment van renunciar a fer-se-la. El fet de realitzar l'ecografia abdominal en aquests casos era per valorar la presència de signes ecogràfics d'hepatopatia crònica. Malgrat això, es va voler estudiar la correlació entre els marcadors i el resultat de l'ecografia, i qualsevol dels 3 marcadors es va associar de manera significativa amb el resultat de



l'ecografia abdominal. Això, és important com es comentarà més endavant, malgrat la no recomanació d'algunes societats, especialment l'EASL (366), per justificar la realització dels marcadors en el diagnòstic de la malaltia en pacients amb factors de risc, en lloc de fer l'ecografia.

Un aspecte important, i fins ara no descrit, és la relació d'aquests marcadors, especialment el FLI, amb la fibrosi hepàtica determinada tant per l'EH, com pels resultats de la biòpsia, en aquells casos que es van poder biopsiar. La relació amb l'EH va ser significativa en qualsevol dels 3 marcadors, si bé va ser més clara en el cas del FLI. Aquests marcadors mostren una alta sensibilitat si bé l'especificitat és més baixa donat el nombre important de subjectes amb EH normal. Així, el 14% dels subjectes amb FLI  $\geq 60$  tenien un valor de l'EH  $\geq 8$  kPa en comparació amb només el 1% dels subjectes amb valors de FLI inferiors a 60. A més, el FLI va presentar una capacitat diagnòstica de fibrosi significativa superior al NFS, FIB-4 i les transaminases tenint en compte el valor de l'EH. Es van comparar també els altres marcadors i, malgrat presentar uns bons valors per sota la corba, el millor va ser el FLI (0,84 per EH 8,0 kPa i de 0,88 per EH 9,0 kPa). Aquests resultats també es van observar en els pacients biopsiats si bé la mostra va ser molt petita.

Que el FLI s'hagi comportat com un marcador de fibrosi, no s'ha descrit a la literatura i, no se'n coneixen els motius, si bé es pot especular que la presència d'obesitat abdominal, com a component del marcador, podria tenir un paper fonamental. Per comprendre millor això, es va fer un estudi poblacional sobre un total de 6.474 subjectes procedents de 5 països europeus on es van incloure els 3.014 subjectes del present estudi, per estudiar el valor dels marcadors NFS i FIB-4 en el cribratge de la fibrosi hepàtica en la població, tenint en compte l'EH i, es va observar que la mesura del perímetre abdominal va ser un dels principals factors predictius de la RH, superior a la determinació dels marcadors serològics (FIB-4 i NFS) amb valors d'EH de 8,0 kPa (430) (dades pendents de publicació). El FLI mesura el greix hepàtic i el greix sistèmic i el fet que el perímetre abdominal sigui un dels seus components, explicarien les dades obtingudes i avalarien la seva utilitat i l'algorisme proposat.

Hi ha molta controvèrsia entre els principals grups i societats científiques sobre la necessitat de fer la detecció del FGNA a la població general, fins i tot en aquells subjectes que presenten factors metabòlics considerats de risc de malaltia hepàtica crònica (109,116,366,382,427). Això es pot justificar per l'escassetat de dades sobre la progressió de la malaltia, l'absència d'una prova de detecció òptima i de tractaments

efectius, que impedeixen la rendibilitat d'enfocaments de detecció. Tanmateix, s'està considerant, com en el cas del present estudi, fer el diagnòstic de la malaltia en els subjectes amb factors de risc i determinar precoçment la presència de fibrosi hepàtica.

D'altra banda, hi ha diferents mètodes de diagnòstic no invasius per la imatge del FGNA i poden usar-se com a part d'estratègies de detecció específiques. La RM espectroscòpica és el patró de referència per al diagnòstic de FGNA en entorns d'investigació, però, a causa de l'accessibilitat i els costos, aquest mètode no és actualment factible per a ús clínic. L'ecografia abdominal només pot detectar l'esteatosi quan supera el 20-30% dels hepatòcits afectats (116). En comparació amb els marcadors serològics, l'ecografia permet observar la morfologia hepàtica i detectar la presència de lesions hepàtiques. El CAP incorporat en els aparells d'EH (un mètode de elastografia per ultrasò; Echosens, París, França) permet identificar l'esteatosi amb una sensibilitat i especificitat raonables. En una metanàlisi de gairebé 4.000 pacients (258), l'àrea sota la corba ROC per a la identificació de qualsevol grau d'esteatosi va ser de 0,82, amb un punt de tall de 248 dB/m, mentre que l'àrea per la identificació d'un grau d'esteatosi superior al 33% va ser de 0,86, amb un punt de tall de 268 dB/m (258). Cal assenyalar, que els valors de CAP es van veure influïts per la presència de malaltia hepàtica, DM2 i obesitat (258). Recentment, s'han publicat els resultats d'un estudi poblacional que va englobar un total de 215 subjectes amb factors de risc metabòlic de FGNA i es va poder observar una correlació significativa entre els valors del CAP i el FLI. A més la capacitat predictiva del FLI va ser significativament superior al valor de les transaminases en el diagnòstic de esteatosi severa. També es va observar una clara relació entre el FLI i l'EH, així com entre el CAP i l'EH (325). Part d'aquests resultats són coincidents amb el present estudi. Hi ha una amplia revisió, on van estudiar diferents algorismes basats en els marcadors serològics per al diagnòstic de FGNA que van incloure el FLI, HSI, NAFLD Liver Fat score, i el steatotest, amb resultat similars(42 6). En l'actual tesi alguns d'aquests marcadors no s'han contemplat per la falta d'algunes variables i per què alguns d'ells estan patentats i no s'han pogut obtenir.

Malgrat totes aquestes evidències, els algorismes dissenyats amb aquests marcadors serològics per cribratge de la malaltia no són del tot acceptats per l'elevat nombre de falsos positius i per la presència d'una especificitat subòptima (431). Així, la guia de recomanacions de la malaltia per fetge gras publicada conjuntament per les Associacions Europees per a l'Estudi del Fetge (EASL), la Diabetis i l'Obesitat recomanen la pràctica de l'ecografia abdominal per l'estudi del fetge gras en les

persones amb obesitat, DM2, SM o alteració de les transaminases (116). Més recentment, l'EASL s'ha ratificat en aquesta recomanació (366). Aquestes associacions defensen la pràctica de l'ecografia abdominal per la informació addicional que poden donar de la malaltia hepàtica, al marge de la presència d'esteatosi, en lloc d'algorismes basats en marcadors serològics. Per contra, l'Associació Americana per a l'Estudi de la Malaltia Hepàtica (AASLD) (109) no recomana la detecció de forma rutinària en grups de pacients d'alt risc, llevat que hi hagi evidència de malaltia hepàtica crònica o proves hepàtiques anormals. D'altra banda, les guies de la Societat Asiàtica per estudi de les Malalties Hepàtiques i la Societat Britànica de Gastroenterologia publicades en el 2017 i 2018, respectivament (421,432), tampoc recomanen la detecció del fetge gras, encara que hi hagi alteració de les proves hepàtiques fins que es disposi de més evidències sobre la seva rendibilitat.

L'Institut Nacional per a l'Excel·lència Clínica del Regne Unit (NICE) va realitzar una anàlisi de cost-efectivitat per al cribatge de FGNA en la població general (421). La progressió de FGNA en el model es va dividir com FGNA sense fibrosi avançada o FGNA amb fibrosi avançada i cirrosi. Es va utilitzar el programa de referència del NHS 2013-14 per als costos rellevants. El cas clínic per a la prova de FGNA va ser una persona de 45 anys amb DM2 o SM. Es van comparar diverses proves per la detecció de més del 5% i més del 30% d'esteatosi. L'anàlisi va mostrar que la detecció de FGNA era rendible en comparació amb no fer cap examen, sent el FLI la prova més efectiva, seguida de l'ecografia abdominal. A causa de que el FLI tenia amplis intervals de confiança per a la sensibilitat que podrien resultar en una gran quantitat de falsos positius, NICE no va recomanar, finalment, la detecció del FGNA. Corey et al, van realitzar una anàlisi de rendibilitat lleugerament diferent (433). Aquest model va assumir els costos en funció de la presència de FGNA sense cirrosi, cirrosi compensada i cirrosi descompensada. Aquest anàlisi va assumir un pacient de 50 anys amb DM2 com a cas clínic i va seleccionar l'ecografia per la detecció de FGNA, seguida d'una biòpsia hepàtica si el resultat era positiu. Els pacients diagnosticats de FGNA van ser tractats amb pioglitazona. Hi va haver una assignació del 21% de diagnòstic incidental de FGNA en l'anàlisi de costos en el grup sense cribatge. L'estudi va concloure que la detecció no era rendible, principalment a causa de la disminució de la qualitat de vida pels efectes secundaris de la pioglitazona.

Malgrat la disparitat d'opinions, és important considerar el percentatge de pacients amb malaltia hepàtica avançada que es passarà per alt si les persones amb factors de risc no es sotmeten a proves de detecció de FGNA i, posteriorment, de fibrosi hepàtica.

És ben sabut i ja s'ha comentat, que la gravetat de la malaltia hepàtica en el FGNA és independent de l'augment de les transaminases. Els valors de les transaminases i, de fet, tot l'espectre histològic de FGNA es poden observar en pacients amb valors normals d'ALT (434). En l'estudi de Rotterdam (124), que va incloure a més de 3.000 participants majors de 45 anys, el cribratge amb EH va mostrar que el 5-6% dels participants tenien fibrosi clínicament rellevant, i la fibrosi estava fortament associada amb l'esteatosi i la DM2. En l'estudi de Hong Kong (122), amb gairebé 2.000 pacients amb DM2 i sense antecedents de malaltia hepàtica crònica, es va trobar un augment de la RH (que indica la presència de fibrosi) en el 17,7% dels pacients. Dels 94 pacients que es van sotmetre a una biòpsia hepàtica posterior, el 50% tenia fibrosi avançada o cirrosi (122). Un estudi del Regne Unit (383), realitzat en 919 pacients amb risc de malaltia hepàtica crònica en quatre centres d'atenció primària, va mostrar que el 25.6% dels pacients tenien augment de la RH i el 2-9% tenia cirrosi confirmada, sent l'obesitat, la DM2 i l'abús d'alcohol els principals factors de risc. En una revisió sistemàtica (56) de proves no invasives per estratificar els pacients amb risc de malaltia hepàtica avançada en un entorn de població general, la prevalença de fibrosi avançada va oscil·lar entre el 0% i el 2,7%, segons les característiques de la població. Es van trobar valors de les transaminases normals en aproximadament el 50% dels pacients amb fibrosi avançada o cirrosi. En el present estudi el percentatge de pacients amb fibrosi va ser similar, especialment en relació a l'estudi de Rotterdam, però va ser coincident amb la presència dels factors de risc, sobretot amb els relacionats amb la SM.

Per tant, tot i que no es recomana el cribratge de FGNA, aquest podria estar justificat en grups de pacients amb factors de risc associats a la malaltia, en lloc de dependre del valor de les transaminases o del resultat de l'ecografia abdominal. Vistes les limitacions dels mètodes de diagnòstic existents pel FGNA, explorar directament la fibrosi en pacients d'alt risc podria ser una alternativa a tenir en compte. Per això seria important una estreta col·laboració entre l'atenció primària i l'atenció hospitalària per al disseny de vies de diagnòstic i derivació, així com comprovar-ne la seva eficàcia. En aquest sentit, la guia de recomanacions per al diagnòstic i derivació de malalts amb FGNA entre la medicina primària i hospitalària a través del consens entre diferents societats del nostre país, com s'ha comentat anteriorment, dona unes pautes d'actuació que facilita el maneig d'aquests malalts (416). Cal remarcar, el consens establert de fer el diagnòstic del FGNA en pacients amb un o més factors de risc (obesitat, DM2, HTA, SM o consum de risc d'alcohol), mitjançant el FLI.

En vista dels resultats obtinguts en la tesi, i malgrat les reticències de molts grups, poder fer el diagnòstic d'una forma senzilla i eficaç és important, tenint en compte a més, la clara correlació que s'ha trobat entre el FLI i l'ecografia abdominal. En tot cas, aquesta última se sol·licitaria segons el criteri mèdic, especialment davant d'un malalt amb augment de les transaminases o bé davant la sospita clínica de presència de malaltia hepàtica. Dotar al metges de l'atenció primària d'eines diagnòstiques útils i fàcils d'emprar, és molt important ja que permet fer el diagnòstic amb una gran celeritat, i evitar fer proves innecessàries, com seria l'ecografia abdominal si aquesta no cal.

Recentment, un grup d'experts internacionals (435), han redefinit la malaltia per fetge gras no alcohòlic com a disfunció metabòlica associada a la malaltia per fetge gras i en l'algorisme diagnòstic que han descrit posen clarament pacients adults amb esteatosi hepàtica detectada per biòpsia o per tècniques d'imatge o per marcadors serològics, especialment el FLI.

#### 4. MARCADORS SEROLÒGICS DE FIBROSI

Inicialment l'estudi de la fibrosi en la població es va determinar mitjançant l'EH i els marcadors serològics NFS i FIB-4. Com s'ha pogut observar la capacitat diagnòstica de l'EH va ser significativament superior als marcadors serològics tant a la població general com en aquells pacients que tenien una fibrosi significativa mitjançant el resultat histològic. Es va estudiar la capacitat predictiva dels marcadors serològics de fibrosi i el FLI a tota la població amb EH  $\geq 9.2$  i, el FLI, malgrat no ser un marcador de fibrosi, va ser significativament superior al NFS, FIB-4 i el valor de las transaminases.

També s'han estudiat, a banda del NFS i el FIB-4, altres marcadors serològics de fibrosi. Comparar-los entre ells en relació, tant a la presència de fibrosi per EH com pel resultat histològic i, comparar-los amb els marcadors de diagnòstic de FGNA. Això permet valorar quines són les millors eines diagnòstiques de fibrosi a la població general en l'atenció primària ja que són els primers receptors dels pacients amb factors de risc i poder-los avaluar en aquest sentit es molt important.

Un cop fet el diagnòstic de FGNA, les guies de les diferents societats científiques, cada vegada són més proclius a incloure marcadors fàcils d'aplicar i permetre predir o excloure la presència de fibrosi, i d'aquesta manera prendre decisions de derivació o no dels malalts des de l'atenció primària a l'especialitzada.

Les HC es caracteritzen per un dipòsit progressiu de fibres de col·lagen al fetge, sent el responsable de les alteracions estructurals i funcionals de les mateixes. A més, el grau de fibrosi és un dels principals factors pronòstics d'aquestes malalties i es correlaciona amb el risc de desenvolupar cirrosi i les seves complicacions (436). La fibrosi hepàtica és un procés dinàmic y potencialment reversible en el qual estan implicats complexos mecanismes moleculars i cel·lulars, que donen lloc a una activació crònica del remodelat i la reparació tissular (145). Les HC, independentment de l'etiologia, romanen asimptomàtiques en la majoria dels casos; per la qual cosa el seu diagnòstic es realitza quan ja es troben en fases avançades, moltes vegades en situació d'irreversibilitat i amb poques possibilitats de tractament. Per tant, l'ideal és identificar els pacients en fases inicials de la inflamació crònica del fetge, incidir de manera efectiva en la seva història natural i, aturar o retardar la seva evolució (28,116,201).

Les dades de l'estudi Global Burden of Disease 2017 (437) van mostrar que la cirrosi és una de les principals causes de mortalitat a tot el món, tant en homes com en dones, representant el 2% del total de morts, amb un augment relatiu del 10,3% des de 2005,

convertint-se en l'onzena causa de mortalitat entre les malalties no transmissibles. A més, la cirrosi augmenta la incidència d'HCC, representant la segona causa de mort per càncer a tot el món (438). En els darrers anys, hi ha hagut un canvi en el paradigma de l'etiologia de la cirrosi hepàtica, disminuint molt la causada per malalties virals, mantenint-se en percentatges alts la provocada pel consum d'alcohol, i havent-hi un augment molt considerable de cirrosi degut al FGNA associat a trastorns metabòlics (437).

Són evidents les limitacions de la biòpsia hepàtica pel diagnòstic de la fibrosi hepàtica a nivell poblacional, per això s'estan imposant els marcadors no invasius ja siguin radiològics o serològics (28). Els avantatges dels marcadors sèrics inclouen alta aplicabilitat, àmplia disponibilitat i costos moderadament baixos. Els marcadors indirectes estan constituïts per una sèrie de variables tant clíniques com analítiques fàcils d'obtenir a la pràctica clínica habitual. Aquests marcadors no es relacionen directament amb el procés de fibrosi hepàtica, però poden identificar o excloure amb precisió a pacients amb malaltia avançada. La majoria han estat extensament avaluats en pacients amb HC per VHC, pacients coinfectats pel VIH, en la HC per VHB i en els pacients amb FGNA (40,276).

Per determinar el grau de fibrosi, independentment d'estudiar els marcadors NFS i el FIB-4, es van incloure en l'estudi altres marcadors que inicialment s'han utilitzat en pacients amb hepatopatia crònica per VHC i comprovar com es comportaven en la població general, com ara APRI (40), Forns (38), Bard (313) i eLIFT (286).

El NFS combina l'edat, hiperglucèmia, IMC, plaquetes, albúmina, quocient AST/ALT per la presència o absència de fibrosi significativa. Per l'estudi de validació es van incloure un total de 733 pacients diagnosticats de FGNA per biòpsia, dels quals es van obtenir dos grups, 480 per dissenyar el model i 253 per validar-lo, observant que aquestes 6 variables eren indicadors independents de fibrosi avançada, de manera que, per al diagnòstic de fibrosi en pont o de cirrosi, la àrea sota la corba ROC de NFS va ser de 0,88 i de 0,82, respectivament. Un valor  $<-1,455$ , present en el 61% dels casos, va excloure la fibrosi significativa amb una elevada precisió (VPN del 93% i del 88% en el grup d'estimació i en el de validació, respectivament). Aplicant el punt de tall més alt de 0,676 la presència de fibrosi avançada podria diagnosticar-se amb elevada precisió (VPP del 90% i 82%, respectivament). Aplicant aquest model, la biòpsia hepàtica podria haver-se evitat en 549 (75%) dels 733 pacients, amb correcta predicció en 496 (90%) (276). Aquests resultats van ser posteriorment validats per Guha et al., els quals van

reportar, a més, que la combinació dels índexs NFS i ELF són més precisos, amb una AUROC de 0,93 per la fibrosi septal i de 0,98 per a la fibrosi en pont o cirrosi (284).

L'índex FIB-4 combina el recompte de plaquetes, ALT, AST i l'edat. En un grup de 847 pacients diagnosticats d'HC VHC, aquest índex va diagnosticar correctament als pacients amb fibrosi important i cirrosi amb un valor AUROC de 0,85 i 0,91, respectivament. Un índex FIB-4  $<1,45$  va tenir un VPN del 94,7% per excloure fibrosi important amb una sensibilitat del 74,3%. Un valor de l'índex FIB-4  $> 3,25$  va tenir un VPP per confirmar l'existència d'un grau important de fibrosi (F3-F4) del 82,1% amb una especificitat del 98,2% (40). En els pacients amb FGNA els punts de tall del FIB-4 són de 1,3 i 2,67 per excloure o diagnosticar fibrosi significativa.

Més recentment, un estudi (285) ha posat en relleu que amb aquests punts de tall no s'identifica correctament la fibrosi significativa en els pacients amb edat superior a 65 anys. Aquest mateix fenomen esdevé amb el NFS. En aquest estudi sobre 634 subjectes amb FGNA diagnosticats per biòpsia dels quals el 25% tenien fibrosi avançada, es va obtenir una especificitat de NFS i FIB-4 baixa pel diagnòstic de fibrosi avançada ( $<35\%$ ) en els subjectes majors de 65 anys. Aquests autors van proposar els punts de tall de NFS  $> 0,12$  y FIB-4  $> 2,0$ , de manera que es reduïrien els falsos positius en un 35 i 50% per FIB-4 i NFS, respectivament.

L'índex APRI inclou el quocient aspartat-aminotransferasa (AST)/plaquetes (39) de manera que un punt de tall  $\leq 0,5$  o  $\geq 1,5$  classifica correctament com fibrosi significativa o no a un 51% dels pacients amb un VPP del 88% i descarta la cirrosi amb un VPN del 93%. Estudis posteriors van demostrar variabilitat en l'exactitud diagnòstica, encara que una revisió sistemàtica sobre 4.266 pacients amb VHC va mostrar una AUROC de 0,76 (0,74-0,79) i de 0,82 (0,79-0,86) per fibrosi significativa i cirrosi, respectivament (439).

L'índex Forns va ser un dels primers índexs en utilitzar una fórmula senzilla amb marcadors indirectes, com ara l'edat, la GGT, les plaquetes i el colesterol, fixant dos punts de tall, menor de 4,21 i major de 6,9 per identificar o excloure fibrosi significativa, presentant un VPN del 96% per excloure fibrosi significativa en el 45% dels pacients (38).

L'índex BARD, combina l'IMC, el quocient AST/ALT i la presència de DM2 per obtenir una puntuació que avalua el risc de fibrosi. Un valor del BARD  $\geq 2$  indica fibrosi avançada amb una àrea sota la corba ROC de 0,81 i VPN del 96% (313).



L' *easy liver fibrosis test* (eLIFT), és un nou marcador amb la finalitat de diagnosticar o excloure fibrosi significativa en qualsevol nivell assistencial (286). Per això es van estudiar prospectivament 3.754 pacients (2.503 per derivació i 1.275 per validació) amb HC. Està constituït per les variables edat, sexe, GGT, AST, plaquetes i taxa de protrombina. De manera que una puntuació  $\geq 8$  és diagnòstica de fibrosi significativa. Aquest algorisme es va comparar amb 8 marcadors de fibrosi. En la fase de validació, eLIFT i FIB-4 van tenir la mateixa sensibilitat (78,0% enfront de 76,6%,  $p=0,470$ ), però eLIFT va presentar menys falsos positius, especialment en pacients  $\geq 60$  anys (53,8% enfront de 82,0%,  $p < 0,001$ ), sent per tant més adequat com a prova de cribratge. FibroMeter (FM) amb elastografia transitòria va ser la més precisa entre les 8 proves de fibrosi avaluades. La sensibilitat de l'algorisme eLIFT-FMVCTE (eLIFT de primera línia, FibroMeterVCTE de segona línia) va ser del 76,1% per la fibrosi avançada i del 92,1% per a la cirrosi. Aquest nou algorisme, anomenat eLIFT-FMVCTE, identifica amb precisió els pacients amb HC avançada que necessiten derivació a l'especialista i aquells sense o amb lesions hepàtiques lleus que poden romandre sota el control pel seu metge habitual.

Tot i que la identificació d'estadis individuals de fibrosi encara no és possible, aquests índexs permeten classificar de forma correcta, evitant la pràctica d'una biòpsia hepàtica, entre el 50-79% dels pacients amb fibrosi significativa o no significativa, amb un elevat VPP i VPN. El principal avantatge que ofereixen és la seva gran aplicabilitat i reproductibilitat entre laboratoris. La seva major limitació és que no són prou sensibles per identificar estadis lleus de fibrosi (F1-F2) però amb risc de progressió (28).

Les observacions del present estudi mostren un resultat similar entre ells si bé, en general, els altres marcadors estudiats no milloren sensiblement els resultats dels observats entre el NFS i el FIB-4. De tots ells, el que té un rendiment millor per al diagnòstic de fibrosi és l'índex Forns. En els pacients amb FGNA els millors marcadors per diagnosticar fibrosi van ser el NFS, FIB-4 i Forns. Aquests resultats són concordants amb estudis previs on els millors marcadors de fibrosi en el FGNA són el NFS i el FIB-4 (406). Les correlacions entre els diferents marcadors i l'EH van ser força discretes, si bé es va observar una relació positiva entre els diferents marcadors serològics i l'EH tant si era  $\geq 8,0$  kPa com  $\geq 9,2$  kPa. Aquesta relació també es va observar quan es van crear les variables categòriques. El BARD, s'havia descrit que era un bon marcador per estudiar la fibrosi en pacients amb FGNA, però en l'estudi actual es va comportar en sentit contrari a l'esperat. Pel que fa a la capacitat predictiva de diagnòstic de fibrosi segons el valor de l'EH cap d'ells es va mostrar sensible i específic alhora, es a dir, són

molt sensibles però molt poc específics. Per contra, presenten en general un VPN molt alt, pel que ajuden a descartar la presència de fibrosi. Quan es comparen amb l'EH per estudiar la capacitat predictiva tots ells tenen uns valors per sota de la corba ROC molt discrets. Aquests resultats són concordants amb altres estudis (389).

També es va correlacionar la capacitat diagnòstica dels diferents marcadors de fibrosi amb el resultat histològic. Val a dir, i s'ha comentat en la descripció dels resultats, que la mostra de pacients amb biòpsia va ser molt petita i la interpretació dels resultats s'ha de fer amb precaució. Malgrat això, quan es van comparar els diferents marcadors amb l'EH, aquesta va ser la prova que millors resultats va obtenir, especialment amb el punt de tall de  $\geq 9,2$  kPa amb una sensibilitat del 93% i una especificitat del 78%. Amb l'EH el nombre de falsos negatius és molt baix i el de falsos positius també. Per tant, de tots els marcadors l'EH resulta ser el més sensible, vol dir, que si un pacient presenta fibrosi la diagnosticarà, però menys específic que la majoria de marcadors, indicant amb més probabilitat que tenim fibrosi quan no la tenim. En quan a la capacitat predictiva, en aquest cas els valors per sota la corba van ser significativament millor pels valors de l'EH.

Els resultats confirmen que els marcadors NFS i FIB-4, tal com es mostra a la primera part de la tesi, són uns marcadors relativament bons per fer el diagnòstic de fibrosi. En canvi la resta de marcadors estudiats no milloren el seu rendiment. La controvèrsia un cop més, radica en si és o no necessari el cribratge de fibrosi en els malalts, especialment amb FGNA, a nivell poblacional (109,116,366,382,421). Tenint en compte que la presència de fibrosi és el factor més important d'evolució a gravetat de la malaltia hepàtica cada vegada hi ha més consciència de la necessitat de poder fer aquest cribratge (440,441).

Hi ha pocs estudis com l'actual que hagin comparat diferents marcadors de fibrosi a nivell poblacional. Així, Hagström i col. van investigar la capacitat pronòstica de cinc marcadors indirectes de fibrosi (APRI, FIB-4, BARD, Forns i NFS) per predir l'evolució de la fibrosi en la població general. Les dades es van obtenir d'una gran cohort amb més de 800.000 persones de Suècia reclutades entre 1985 i 1996 amb seguiment de registres fins al 2011 (442). En general, la capacitat pronòstica dintre de la població general durant els 10 anys de seguiment va ser modesta amb corbes ROC que van variar de 0,54-0,71. Aquests valors van ser similars als observats en el present estudi. En l'estudi de Boursier et al. (381) sobre 452 subjectes amb FGNA diagnosticats per biòpsia van estudiar la presència de fibrosi mitjançant nou marcadors serològics de

fibrosi i l'EH. De tots els marcadors, el FibroMeter i l'EH van ser els més precisos per predir la fibrosi amb valors d'AUROC de 0,79 i 0,84 per detectar  $F \geq 2$ , 0,82 i 0,83 per detectar  $F \geq 3$  i 0,82 i 0,86 per detectar F4, respectivament. A més, totes dues proves van mostrar una bona capacitat predictiva de mortalitat per complicacions hepàtiques en la cohort longitudinal de l'estudi. En la present tesi el FibroMeter no es va valorar, ja que és un marcador patentat i en el nostre entorn no es possible realitzar-lo, però els resultats que es van observar en relació a l'EH van estar en consonància amb la cohort de Boursier et al. D'altra banda, Petta i col. (443) van trobar que FIB-4, NFS i l'EH tenien una bona capacitat predictiva pel diagnòstic de fibrosi en un estudi de 761 subjectes amb FGNA diagnosticats per biòpsia. Quan l'EH es va combinar amb NFS o FIB-4, hi va haver una menor taxa de subjectes classificats incorrectament en comparació amb qualsevol d'aquestes proves soles, però el percentatge de resultats discordants va ser alt, superior al 50%. Aquests autors van concloure que, una manera esglaonada de fer el diagnòstic de fibrosi, es a dir, avaluada inicialment amb els marcadors serològics NFS i FIB-4, seguida de l'EH, va millorar el rendiment diagnòstic, particularment en subjectes amb valors indeterminats en comparació amb el diagnòstic combinat (443). Aquesta proposta d'abordatge de la fibrosi de manera esglaonada és la que proposen alguns autors i societats científiques, ja que pot tenir una major rendibilitat que utilitzar una única prova per diagnosticar la fibrosi de manera no invasiva (109,116,366,382,417,443).

El FLI malgrat ser un marcador de diagnòstic de FGNA, s'ha comportat com un bon marcador de fibrosi amb una capacitat predictiva superior als marcadors serològics de fibrosi amb un valor sota la corba ROC de 0.84. Com he comentat abans, aquest és un resultat molt rellevant, fins ara no descrit, que no se sap el motiu del seu comportament. Si bé la presència entre les seves variables components de marcadors metabòlics que valoren el greix hepàtic i el greix visceral podria ser el motiu de la seva capacitat predictiva per fibrosi. A més per la seva senzillesa pot tenir un gran impacte i aplicabilitat. En l'estudi descrit abans de Graupera et al (430) el perímetre abdominal va ser un dels principals factors predictius de la RH i, en comparació amb el FIB-4 i NFS, el perímetre abdominal va tenir un rendiment diagnòstic superior de fibrosi hepàtica en la població general. La facilitat de poder mesurar el perímetre abdominal, pot ajudar a identificar a les persones amb major risc de fibrosi hepàtica, mostrant-se com una eina diagnòstica molt útil a les consultes d'atenció primària (430) a l'hora de seleccionar aquells pacients als que s'haurà de fer més proves diagnòstiques per confirmar o descartar la fibrosi. A més, es va trobar una proporció significativa de

subjectes que van presentar valors falsos negatius dels marcadors FIB-4 o NFS i un major nombre de falsos positius, això significa que una estratègia basada només en aquests dos marcadors pel diagnòstic de fibrosi pot suposar perdre pacients que necessiten una derivació immediata i tenen un alt risc de sobrediagnòstic.

Els marcadors FIB-4 i NFS, al igual que d'altres, s'han desenvolupat en poblacions d'alta prevalença de fibrosi en centres especialitzats, però no s'ha determinat en base a estudis poblacionals, on la detecció és més important. Totes les cohorts incloses en aquest estudi (430) estaven constituïdes per subjectes reclutats prospectivament a l'atenció primària, de manera que a la cohort total hi estaven representats, tant la població general com la població amb factors de risc, com l'obesitat, diabetis tipus 2 i consum d'alcohol. Tots els pacients van ser avaluats al mateix temps amb EH i marcadors serològics.

La prevalença de fibrosi hepàtica significativa basada en l'EH en les cohorts va oscil·lar entre el 5,6% i el 17,9% en la població general i en les poblacions de risc, respectivament. En aquest escenari, més d'un terç dels pacients van ser classificats erròniament per FIB-4 i NFS, i això va ser encara més marcat en les cohorts de risc. A més, utilitzant el punt de tall de 8,0 kPa, hi va haver un 3-4% de subjectes amb valors falsos negatius de FIB-4 i/o NFS que s'haurien perdut, i aquesta proporció va augmentar a un 8-9% en les cohorts de risc. A més, el percentatge de falsos positius va ser elevat, entre el 26-29%. Quan parlem de cribratge, els falsos positius condueixen a un sobrediagnòstic de subjectes asimptomàtics i prèviament s'ha demostrat en programes de cribratge de càncer el potencial efecte nociu del sobrediagnòstic (444,445). A més, aquest sobrediagnòstic pot portar a un ús inadequat de recursos sanitaris.

En general, l'EH és el millor mètode no invasiu pel diagnòstic de fibrosi en les HC en general i en el FGNA en particular. En aquesta tesi s'ha utilitzat l'EH com a prova de cribratge de detecció de fibrosi en la població general. Es va utilitzar la sonda M ja que la sonda XL no estava disponible. Malgrat això, el nombre de casos que es van haver de excloure van ser molt pocs (46 pacients), probablement perquè hi havia un nombre molt reduït de pacients amb obesitat mòrbida. Al marge de l'EH hi ha altres mètodes radiològics no invasius com l'ARFI i especialment la RM per espectroscòpia. Aquestes tècniques només estan disponibles a nivell hospitalari. Una metaanàlisi sobre 64 estudis amb un total de 13.046 subjectes amb FGNA va demostrar que la RM i l'ARFI tenien un valor AUROC significativament més gran per detectar fibrosi  $\geq F3$  (0,96 i 0,95,

respectivament) en comparació amb la sonda FibroScan M (0,88), sonda FibroScan XL (0,85), NFS (0,84), FIB-4 (0,84), APRI (0,77) i puntuació BARD (0,76) ( $p < 0,001$ ). El VPN per excloure la cirrosi en totes les proves va ser  $>90\%$  (446). Malgrat que aquestes proves tenen una major capacitat diagnòstica que l'EH i els marcadors serològics, en el present estudi l'EH va presentar uns bons resultats.

Els mètodes diagnòstics no invasius, ja siguin radiològics o serològics, encara no són capaços de distingir entre el FGNA de l'EHNA sinó es mitjançant la biòpsia hepàtica. Així, tant la RM com l'EH tenen poca capacitat per distingir l'EHNA del FGNA, encara que el valor AUROC de la RM en la detecció de l'EHNA és significativament més gran que l'EH (0,70 front de 0,35;  $p=0,001$ ) (447), però, presenten uns valors molt discrets i es necessiten més estudis per tal de poder millorar la seva capacitat diagnòstica per detectar EHNA.

D'altra banda, els marcadors no invasius poden tenir la capacitat de predir l'evolució clínica en subjectes amb malaltia HC. Així, utilitzant dades de l'Enquesta Nacional d'Examen de Salut i Nutrició, Kim et al. (448) van ser els primers a demostrar un augment de la mortalitat segons el grau de fibrosi mitjançant els marcadors serològics. Així un quocient de risc (HR) ajustat per al NFS, APRI i FIB-4 en subjectes amb fibrosi avançada en comparació amb aquells sense fibrosi va tenir uns valors de OR de 1,69, 1,85 i 1,44, respectivament, i la major part de la mortalitat s'atribueix a malalties cardiovasculars. De manera similar, en subjectes amb FGNA, una metaanàlisi recent va demostrar que un valor de  $\text{NFS} > 0,676$  s'associa amb un risc de mortalitat quatre vegades més gran en comparació a valors més baixos (449). Per contra el FIB-4 i l'APRI van ser menys eficaços per predir la mortalitat en pacients amb FGNA en comparació amb NFS. Les proves no invasives també poden ajudar a monitoritzar la resposta a la teràpia, però actualment, les dades són limitades. L'anàlisi post-hoc d'un assaig que va avaluar l'ús d'àcid obeticòlic en FGNA va demostrar que la millora en la fibrosi histològica es va associar amb una millora en els marcadors APRI, FIB-4 i NFS en comparació amb els valors inicials, suggerint que els marcadors serològics poden ser útils per controlar la resposta de la malaltia segons el tractament (450).

Un aspecte important que s'ha treballat en la present tesi, i fins on en tinc coneixement és la primera vegada que s'ha estudiat, és l'anàlisi simultània dels marcadors serològics de diagnòstic de FGNA i de fibrosi en comparació amb l'EH i els resultats de la biòpsia hepàtica. Un resultat important, ja comentat, és que els marcadors de diagnòstic de FGNA rendeixen millor que els de fibrosi en comparació amb l'EH, molt especialment el

FLI amb un valor per sota la corba ROC de 0,88. En general els marcadors de diagnòstic de FGNA són més sensibles i els de fibrosi més específics. De tota manera quan es compara amb els resultats histològics la millor capacitat predictiva és la de l'EH amb un valor sota la corba ROC de 0,86, sent molt més elevada que la resta.

Hi ha poques dades en aquest sentit, si bé un estudi va validar el FLI tant en població general com en població amb obesitat trobant una associació amb la RI i predint de manera variable futurs esdeveniments metabòlics, hepàtics i cardiovasculars. Segons aquest estudi el FLI indica de manera fiable la presència d'esteatosi però no permet quantificar el contingut de greix hepàtic (426). Tanmateix, a un estudi fet a l'atenció primària on es van estudiar 215 pacients amb factors de risc metabòlics coneguts, es va poder observar una clara relació entre el contingut de greix mitjançant el CAP i el FLI. El que probablement pot passar és que el FLI i altres marcadors serològics de diagnòstic de FGNA, poden estar influïts per la presència d'inflamació hepàtica i fibrosi, i per això, alguns autors, defensen que aquests marcadors no aporten grans avantatges en relació a les tècniques d'imatge i les transaminases, i per tant, la seva aplicació a la pràctica clínica habitual no està estesa (451). No obstant això, amb els resultats de la validesa tant pel diagnòstic en pacients amb factors de risc, com per determinar els pacients que s'han d'avaluar per saber el grau de fibrosi observat en el present estudi i, tenint en compte la seva àmplia disponibilitat, el seu baix cost i la seva accessibilitat des de l'atenció primària els converteixen, especialment el FLI, en una alternativa raonable com a primer pas de cribratge per el diagnòstic i grau de fibrosi davant la sospita de FGNA.

També es van estudiar els diferents marcadors de diagnòstic i de fibrosi, en comparació a l'EH i la histologia, en els subjectes amb un o més factors de risc. En la present sèrie el nombre de persones amb un o més factors de risc va ser de 1.779. Es va observar una relació positiva entre els marcadors de diagnòstic i de fibrosi amb l'EH. La capacitat diagnòstica que es va observar és similar a tota la població, si bé els marcadors que ja eren sensibles encara ho són més i els específics també. Una vegada més el FLI va presentar el millor rendiment diagnòstic, sigui quin sigui el valor de l'EH, però amb valors AUROC una mica pitjors (0,79 i 0,83) que usant la població general, tant per nivells de 8,0 kPa i 9,2 kPa, respectivament.

Tot i que els marcadors serològics són bones eines diagnòstiques, cap d'ells supera la capacitat predictiva i diagnòstica de l'EH. Ja hem vist com els marcadors presenten, en general, un VPN molt alt per excloure o determinar la presència de fibrosi important, però tenen en general l'inconvenient de no ser prou precisos en aquells subjectes que

estan en zona indeterminada o zona gris de fibrosi, es a dir, F1-F2. De totes les proves, ja siguin serològiques o radiològiques, la millor és l'EH, que presenta un grau de validesa molt elevat, tal i com s'ha observat en altres sèries. Així, Roulot et al (126) van estudiar 1.358 subjectes amb EH entre els anys 2005 i 2008 (abans de la disponibilitat de la sonda XL) i van obtenir una mesura vàlida en el 89,2% dels participants. En un estudi transversal dut a terme entre els anys 2008-10 a la Xina, realitzat per Wong et al, (també abans de la disponibilitat de la sonda XL) entre 3.000 candidats, el 82% tenia una mesura de l'EH vàlida (128). Un altre estudi realitzat al Regne Unit entre 922 pacients de la població general va confirmar l'alta aplicabilitat d'EH amb la sonda XL disponible, amb un 97,8% de mesures vàlides (383). De la mateixa manera, en el present estudi es va practicar l'EH a 3.076 (63%) entre 4.866 persones seleccionades durant els anys 2012-16. Només l'1,5% tenia una mesura no vàlida i el 3,6% va resultar tenir fibrosi significativa ( $EH \geq 9,0$  kPa), el que es va confirmar mitjançant biòpsia hepàtica en un subconjunt del 31% dels pacients elegibles. A la vista d'aquests resultats l'aplicabilitat d'EH en la població general amb factors de risc sembla força evident amb un percentatge elevat de resultats positius. Tanmateix, la seva veritable precisió diagnòstica en la detecció de fibrosi no s'ha comparat suficientment en relació a la biòpsia hepàtica. Així, en un estudi controlat de la població amb un 100% dels subjectes amb biòpsia, però, amb l'alcohol com a factor de risc, Thiele et al. van confirmar el rendiment diagnòstic de l'EH amb un 86% de sensibilitat i 97% d'especificitat en una població on el 6% tenia fibrosi avançada (452). A més en aquest estudi, van comparar el marcador serològic directe ELF i el marcador indirecte FibroTest amb l'EH. ELF (límit de 10,5) i el FibroTest (límit de 0,58) van ser excel·lents per descartar fibrosi avançada amb un VPN del 98% i 97%, però, tampoc van tenir capacitat diagnòstica de fibrosi avançada amb un VPP del 60% i 39%, respectivament.

Fins ara, s'han publicat un nombre limitat d'estudis arreu del món sobre el cribratge sistemàtic de la fibrosi hepàtica en la població general utilitzant mètodes no invasius. Així, a Europa, s'han publicat sis estudis que van utilitzar l'EH i 2 estudis que van utilitzar marcadors serològics (FibroTest®). Tot i els diferents valors emprats i el mètode no invasiu utilitzat, la prevalença global de fibrosi hepàtica significativa entre la població general en aquests estudis oscil·la entre el 0,7% i el 25% (124,125,126,325,453-455). Curiosament, les estimacions de prevalença més baixa i més alta es van trobar en estudis que van utilitzar marcadors serològics (125,453). Quan s'utilitza l'EH la prevalença de fibrosi hepàtica significativa oscil·la entre el 2,4% i el 7,5%, mentre que la de cirrosi oscil·la entre el 0,25 i el 0,76%. Així, en l'estudi de Roulot (126) amb un punt

de tall de l'EH de 8 kPa van trobar una prevalença del 7,5% de fibrosi hepàtica significativa i una prevalença de 0,76% de cirrosi amb un valor de l'EH de 13 kPa. Resultats similars es van trobar en l'estudi de Rotterdam on el 5,6% de la població tenien una EH > 8 kPa i el 0,6% tenien una EH > 13 kPa (124). La manca de biòpsies hepàtiques en aquest últim estudi i el baix nombre de biòpsies hepàtiques en l'estudi de Roulot, són una limitació per establir el punt de tall de 8,0 kPa com a diagnòstic de fibrosi hepàtica significativa en la població general. En el present estudi, amb gairebé un centenar de biòpsies hepàtiques realitzades, el millor punt de tall de l'EH per el diagnòstic de fibrosi significativa en la població general va ser de 9,2 kPa. A més, la prevalença de fibrosi significativa va ser del 2,6% i la de cirrosi del 0,4%. Posteriorment, s'han publicat els resultats de dos estudis amb un nombre més petit de subjectes i que van utilitzar uns punts de tall d'EH similars (9 i 9,6 kPa), trobant una prevalença de fibrosi significativa similar del 2,4% i 4%, respectivament (325,454). Finalment, un estudi recent en subjectes joves (entre 23-35 anys) de la cohort prospectiva de Bristol van trobar una prevalença de l'EH per sobre de 7,9 kPa de 2,4% i per sobre de 11,7 kPa de 0,25% (455).

Malgrat l'heterogeneïtat de les poblacions, proves emprades o punts de tall de l'EH utilitzats, una troballa comuna en tots els estudis realitzats en la població general, inclòs el present, és que hi ha una associació entre els valors de l'EH i els components de la SM, la qual cosa suggereix que el FGNA és la principal causa de fibrosi hepàtica. A més, en els estudis en què es va realitzar una biòpsia hepàtica, es va confirmar el FGNA com la principal causa de malaltia HC en la població general. De fet, en estudis que van investigar la prevalença de fibrosi hepàtica, segons l'EH a la població amb factors de risc de malaltia HC, com DM2, obesitat o consum de risc d'alcohol, la prevalença de fibrosi hepàtica significativa va ser més gran que la trobada en el total de la població general, entre un 18 i 27% (42,456). Aquests resultats són consistents amb el present treball.

Els pocs estudis esmentats fins ara s'han realitzat amb poblacions europees. A Nord-Amèrica, l'estimació de la gravetat de les malalties hepàtiques és escassa. Malgrat tot, podem destacar algunes observacions sobre les malalties hepàtiques més comunes. Durant els últims 30 anys, la càrrega de les diferents etiologies de les malalties hepàtiques als EE. UU. ha canviat a causa dels avenços en el tractament de l'hepatitis viral i la creixent epidèmia d'obesitat. Una anàlisi recent de 58.731 adults de l'Enquesta Nacional d'Examen de Salut i Nutrició NHANES (1988-2016) va mostrar que la prevalença de FGNA avaluada per FLI va augmentar del 20.0% (1988-1994 ) al 31.9%



(2013-2016), mentre que la prevalença de l'hepatopatia crònica VHC es va reduir gairebé a la meitat: 1,6% a 0,9% i l'hepatitis B crònica i la malaltia hepàtica alcohòlica es van mantenir estables: 0,3% - 0,4% i 0,8% -1,0%, respectivament (457). És de destacar que aquestes observacions són similars a les del present estudi, on la prevalença de FGNA va augmentar molt i també mitjançant el FLI (38%), mentre que la prevalença del VHC va ser molt baixa (0,3%).

Entre els pacients amb FGNA, les estimacions de prevalença de fibrosi avançada han oscil·lat entre el 3,2% i el 10,3%, segons el mètode d'avaluació i la població (198,448,458,459). S'estima que la mortalitat relacionada al FGNA és del 1-2%, amb una taxa de trasplantament de fetge de 1:420 (460).

Fins ara, l'avaluació no invasiva de la fibrosi s'ha centrat en els marcadors indirectes i l'EH. Entre els marcadors indirectes, a banda dels analitzats en el present estudi, ni ha d'altres que són bons marcadors, però, tenen l'inconvenient de que estan patentats, presenten unes variables incloses que no es determinen habitualment i per poder-los utilitzar tenen un cost que, avui per avui, no és assumible pel sistema sanitari. D'altra banda, els marcadors serològics directes, estan constituïts per unes variables relacionades tant amb els processos de fibrogènesi com de fibrolisi i, per tant directament vinculades amb el procés de fibrosi. De tots ells, un dels més emprats és l'ELF (290). Com s'ha vist en la discussió dels algorismes, hi ha autors que defensen la seva utilització com a pas intermedi entre l'assistència primària i l'hospitalària (461). Aquest marcador té un cost elevat i no es pot utilitzar de forma rutinària. Personalment penso que, a la vista dels resultats exposats fins ara, utilitzar aquesta prova no millora el rendiment de l'EH ni dels marcadors serològics, especialment el NFS. Per tant, crec que els esforços econòmics haurien d'anar adreçats, com després veurem en l'estudi de cost efectivitat de l'EH, a la implementació d'aquesta eina a tots els nivells assistencials. Inicialment, totes aquestes proves es van utilitzar en el diagnòstic de fibrosi significativa dels malalts amb hepatopatia crònica VHC (462).

En el present estudi es va determinar l'ELF només en els pacients amb una hipertransaminasèmia. En total es van estudiar 199 (8,9%) subjectes. La correlació amb els altres marcadors va ser molt discreta, sent la millor amb el NFS (0,42) i l'EH (0,46). Com era esperable els valors d'ELF van ser superiors amb valors més elevats de l'EH. La capacitat predictiva de fibrosi va ser major com més elevada era l'EH. Amb un valor d'EH de 8,0 kPa la capacitat predictiva d'ELF (0,79) va ser similar al FLI (0,79) i al NFS (0,80). Amb un valor elastogràfic de 9,2 kPa la capacitat predictiva d'ELF (0,84) va ser

superior però no va diferir molt d'altres marcadors com ara el NFS (0,82). Aquests resultats són coincidents amb un estudi realitzat sobre 146 pacients amb malalties hepàtiques de diverses etiologies dels quals 87 van ser trasplantats. El valor d'ELF per a la predicció tant de fibrosi moderada com de fibrosi severa va ser similar al present estudi amb uns valors de tall de 9.37 i 10.45, respectivament (293). Tanmateix, el principal inconvenient d'aquest marcador és la manca de disponibilitat en els centres assistencials, tant hospitalaris com en l'atenció primària i suposa, a més, un sobrecost important (228). En el present estudi, el NFS va mostrar una bona fiabilitat diagnòstica en la predicció de fibrosi tant, en els pacients amb EH de 8,0 kPa (AUROC 0.80), fins i tot sent superior a ELF, com en els pacients amb fibrosi de 9,2 kPa (AUROC 0.82). Aquests resultats són coincidents amb altres estudis, especialment en pacients amb FGNA (276,463), on aquest índex mostra una bona fiabilitat diagnòstica amb una sensibilitat i especificitat similars als presents resultats. En aquest sentit, Guha et al (284) van estudiar un total de 196 pacients amb FGNA/EHNA i van analitzar la combinació d'ELF i NFS amb un valor de AUROC 0.93 (0,88-0,99) per al diagnòstic de fibrosi moderada i de 0,98 (0,96-1) per al diagnòstic de fibrosi severa evitant amb molta fiabilitat la pràctica de la biòpsia hepàtica. Es va analitzar aquesta combinació en els pacients amb fibrosi moderada, presentant uns valors predictius de fibrosi superiors, encara que sense arribar als valors de l'estudi esmentat, AUROC 0.84 (0,76-0,92).

S'ha repetit en diverses ocasions, que aquests índexs discriminen bé als pacients amb absència de fibrosi d'aquells que presenten una fibrosi avançada. El seu principal desavantatge és que no són prou sensibles per identificar estadis lleus de fibrosi però amb risc de progressió (115,278,464). Els resultats d'aquests índexs han d'interpretar-se amb cura, a causa de la influència de comorbiditats associades, així com, a l'activitat necroinflamatòria i alteracions lipídiques o per ús de medicaments. És interessant ressenyar en aquest sentit, el grau variable d'esteatosi hepàtica en els pacients amb HC, que juga un paper fonamental tant en la presència com en la gravetat de la fibrosi hepàtica (203,465). Això és coincident amb els resultats actuals, on s'ha observat un augment de pacients amb DM2, dels nivells de glicèmia i de l'IMC, factors associats a l'esteatosi, a mesura que progressa la fibrosi hepàtica.

Per últim, un percentatge relativament elevat de pacients amb una HA, o una hepatitis crònica per VHB i VHC, cursen amb valors normals de les transaminases (201). Això és important, especialment per als metges d'atenció primària que, són els que inicialment han de diagnosticar als pacients amb una probable malaltia hepàtica. Així, en un estudi poblacional per valorar el grau de fibrosi en subjectes amb factors de risc de malaltia

hepàtica, van identificar un nombre important de pacients amb valors normals dels enzims hepàtics (327). Així un 72% dels pacients amb una EH  $\geq$  8,0 kPa, un 60% amb presència de fibrosi en la biòpsia hepàtica i un 91% amb diagnòstic de cirrosi, va presentar una xifra d'ALT normal. De fet, en el present estudi s'ha observat que el valor de les transaminases en la predicció de la severitat de la fibrosi és inferior als índexs estudiats (AUROC 0.60, 0.55 i 0.51 per AST, ALT i GGT, respectivament). Cada vegada més, les malalties hepàtiques es reconeixen i s'estudien de manera més intencionada a l'atenció primària, especialment des de l'auge de les malalties metabòliques, que poden jugar un paper important en el desenvolupament de la fibrosi hepàtica. Decidir quins pacients s'han de derivar a l'especialitzada i quins no, no és una tasca fàcil i implica un major coneixement del grau evolutiu de la malaltia. És per això que, a més de la determinació dels enzims hepàtics, s'han d'aplicar marcadors serològics fàcils d'utilitzar i seria molt convenient disposar de l'EH en els centres d'atenció primària per determinar el grau de fibrosi i estratificar millor els pacients segons risc (112,201,327,416).

En resum, i vistes les limitacions de la biòpsia hepàtica, es necessiten estratègies alternatives per estratificar la malaltia hepàtica. Les proves d'imatge i els marcadors serològics són cada vegada més útils, ja que ajuden a avaluar l'estadi de fibrosi, ajuden en el pronòstic de la malaltia hepàtica i, en última instància, guien les decisions clíniques. Els marcadors serològics satisfan, en part, aquesta necessitat ja que són proves simples, accessibles i reproduïbles amb resultats satisfactoris. D'altra banda, l'EH és la prova radiològica més estudiada i, en general supera els marcadors serològics per detectar fibrosi avançada. Malgrat els avenços en el desenvolupament de proves no invasives, queden diverses preguntes per respondre. En primer lloc, no està clar com diagnosticar els graus de fibrosi F1-F2, en particular pel que fa a les proves serològiques dintre dels valors indeterminats, ja que és aquí on hi ha molta incertesa. En segon lloc, encara no s'ha definit la combinació adequada d'aquestes proves, ja sigui de forma individual seriada o simultània en paral·lel. Per exemple, l'ús d'un enfocament combinat pot brindar l'oportunitat de classificar casos que d'altra manera s'haurien considerat que es trobaven en un valor indeterminat quan s'utilitzen de manera individual. No obstant això, les diferents proves s'han d'adaptar en funció de la sospita de la malaltia ja que l'enfoc i l'ús de proves poden canviar en el context de diferents malalties. En tercer lloc, no s'ha determinat la utilització d'aquestes proves en el tractament de les malalties hepàtiques. Per exemple, caldrà explorar el paper de les proves no invasives en la regressió de la malaltia, particularment amb el tractament de la malaltia subjacent. De

manera similar, no està del tot clar com utilitzar les proves no invasives en el seguiment clínic de la progressió de la malaltia hepàtica (310,438).

A més, amb el tractament efectiu contra el VHC i l'eradicació de la malaltia, s'ha produït un canvi substancial en la investigació del FGNA, i s'ha posat més èmfasi en la identificació de subjectes en risc de malaltia avançada. Això justifica una major precisió per validar les proves d'imatge, com l'EH, ja que l'obesitat i l'esteatosi poden disminuir la precisió. A mesura que millori la comprensió i el perfeccionament de les tècniques, també ho farà la necessitat d'identificar i estratificar el risc dels pacients. En aquest cas és necessari continuar investigant per desenvolupar eines de predicció clínica i algorismes de detecció que es puguin emprar tant en la població general com en les poblacions de pacients amb risc de malaltia. Idealment, alguns d'aquests algorismes, com s'ha fet en la present tesi, s'haurien d'utilitzar fora de les consultes dels gastroenteròlegs o hepatòlegs i implementar-se en l'entorn d'atenció primària amb posterior derivació a l'atenció especialitzada (466). En general, l'objectiu d'aquestes proves és minimitzar la necessitat de la biòpsia per fer el diagnòstic de la malaltia hepàtica. Certament, això representa un moment important en l'estratificació no invasiva de la fibrosi en la malaltia hepàtica.



## **5. LA SÍNDROME METABÒLICA COM A FACTOR DE RISC DE FIBROSI HEPÀTICA EN SUBJECTES AMB CONSUM DE RISC D'ALCOHOL.**

El present estudi va analitzar la prevalença de fibrosi hepàtica i l'efecte de la interacció entre el consum d'alcohol i la SM en un grup de 1.760 subjectes amb consum d'alcohol, tant present com passat, del total de 3.014 participants. L'estudi va trobar una prevalença augmentada de fibrosi hepàtica entre els bevedors de risc en comparació, no només entre els bevedors moderats o els abstinentes de tota la vida, sinó també amb els ex-bevedors. El més important és que la presència de la SM era un factor predictiu independent en els subjectes amb consum d'alcohol.

Fins ara, la majoria dels estudis que han investigat l'efecte de la interacció entre l'alcohol i la SM com a possibles cofactors de malalties hepàtiques s'han centrat en l'efecte del consum moderat d'alcohol en subjectes amb FGNA (315-318,467). Aquests estudis han mostrat troballes discrepants. Tot i que en alguns casos van mostrar un efecte protector de l'alcohol sobre la malaltia del FGNA, altres resultats van descriure un efecte perjudicial en pacients amb FGNA (315-318,467). Aquestes diferències probablement estan relacionades amb el fet que la majoria d'aquests estudis són retrospectius, utilitzen mètodes heterogenis per al diagnòstic de l'esteatosi i la fibrosi i, probablement, tenen un biaix de selecció que pot impedir una interpretació correcta dels resultats (468,469).

Pocs autors han abordat el possible efecte de la SM o dels seus components sobre el risc de malaltia hepàtica en subjectes amb consum d'alcohol. Un estudi va demostrar que l'obesitat, un component clau de la SM, va tenir un efecte negatiu sobre el risc de mortalitat en subjectes amb malaltia HA avançada (319). Un estudi poblacional, basat en dades de la història clínica, va mostrar un efecte negatiu de la DM2 i l'obesitat sobre el risc de consum d'alcohol i les HC víriques (320). D'altra banda, dos estudis poblacionals realitzats al Regne Unit van mostrar un efecte sinèrgic del consum d'alcohol i de l'IMC com a factors de risc d'hospitalitzacions per cirrosi i mortalitat relacionada amb el fetge (321,322).

En aquest context, els punts forts d'aquest subestudi són: 1) avalua l'efecte sinèrgic de la SM i el consum d'alcohol en una població nombrosa i seleccionada a l'atzar sense malaltia hepàtica coneguda, analitzant les dades segons la durada i la gravetat del consum d'alcohol i 2) la fibrosi hepàtica es va avaluar en tots els subjectes mitjançant l'EH, que actualment es considera el millor mètode no invasiu d'avaluació de la fibrosi

hepàtica (28). A més, es va avaluar la histologia hepàtica en una alta proporció de subjectes amb valors augmentats d'EH.

La principal troballa de l'estudi és que la SM és un factor predictiu independent de la fibrosi hepàtica en subjectes amb consum d'alcohol identificats aleatòriament de la població, fet que confirma que la SM i els seus components actuen sinèrgicament amb l'alcohol per augmentar el risc de fibrosi hepàtica. La SM va augmentar el risc de fibrosi hepàtica amb una OR de 3,95 en tota la població de bevedors. Tenint en compte l'alta prevalença d'obesitat i altres components de la SM a la majoria de països, aquesta troballa és clínicament rellevant i demana accions específiques en la gestió de l'addicció a l'alcohol en pacients amb SM per prevenir el desenvolupament de fibrosi hepàtica greu. D'altra banda, els pacients amb SM i consum d'alcohol haurien de considerar-se un grup d'alt risc i s'haurien de desenvolupar estratègies específiques per a la identificació precoç de la fibrosi hepàtica en aquesta població. Hi ha una superposició significativa en la patogènesi de malalties hepàtiques causades per l'alcohol i la SM que pot explicar l'efecte perjudicial dels factors de risc metabòlics sobre la malaltia HA. Tant la malaltia HA com el FGNA comparteixen característiques histològiques que van des de l'esteatosi hepàtica fins a la inflamació i un grau variable de fibrosi, amb patrons histològics similars (470). Des d'un punt de vista patogènic, s'ha demostrat que l'alcohol i els factors de risc metabòlics indueixen la lipogènesi de novo del fetge i interfereixen en el metabolisme dels àcids grassos (471-473); ambdós factors indueixen la secreció d'adipocitoquines que estimulen l'activació del sistema immunitari. A més, s'ha trobat que la composició del microbioma intestinal es veu alterada per l'alcohol i els factors de risc metabòlics d'una manera similar, ja que s'ha demostrat que els factors de risc metabòlics indueixen la producció endògena d'alcohol pel microbioma (474); s'ha observat que l'alcohol i els factors de risc metabòlics augmenten els nivells d'àcids biliars secundaris que actuen com a activadors de vies inflamatòries (475,476). Tots aquests mecanismes habituals de lesió hepàtica es poden activar de manera més intensa quan l'alcohol i la SM concorren com a factors de risc de malaltia hepàtica en el mateix pacient.

En els resultats de l'estudi, la relació entre la SM i el consum d'alcohol no es va observar en pacients amb un consum d'alcohol considerat important (>40 UBEs/setmana). Aquesta troballa és interessant i mereix ser investigada en profunditat. Un altre aspecte interessant del present estudi, va ser que la prevalença de l'augment de l'EH oscil·lava entre el 5% en els ex-bevedors i bevedors moderats i el 10% dels bevedors de risc. Les

dades histològiques suggereixen que la diferència real de la prevalença de fibrosi hepàtica significativa entre aquests grups pot ser major perquè el 87% dels bevedors de risc presentaven fibrosi F2 o més en la histologia hepàtica, en comparació amb el 43% dels bevedors moderats o ex-bevedors. Aquestes troballes s'han de prendre amb precaució a causa del nombre limitat de subjectes amb biòpsia hepàtica (47 dels 109 subjectes amb EH augmentada). No obstant això, aquesta proporció de biòpsies hepàtiques és bastant elevada per a un estudi poblacional.

Aquest subestudi presenta algunes limitacions que cal esmentar. Hi ha limitacions tècniques referides a l'aparell d'EH, ja que la sonda XL no estava disponible en el moment en què es va realitzar aquest estudi, de manera que els resultats sobre l'EH es poden sobrevalorar, especialment en subjectes obesos (477-479). A més, el CAP no estava tampoc disponible; per tant, el diagnòstic de l'esteatosi hepàtica es va basar en el marcador serològic FLI; tanmateix, FLI s'ha demostrat com un índex fiable per avaluar l'esteatosi hepàtica en la població general (287).

En conclusió, les dades d'aquest estudi poblacional mostren un impacte significatiu de la SM en el risc de fibrosi hepàtica entre subjectes amb consum d'alcohol. Aquestes dades destaquen l'efecte de la SM com a cofactor de la fibrosi hepàtica en bevedors importants. Aquesta observació s'ha de tenir en compte per al tractament de subjectes amb malaltia hepàtica relacionada amb l'alcohol i subratlla la necessitat d'un control estricte dels factors de risc metabòlic, especialment en els bevedors de risc.





## **6. ANÀLISI DE COST-EFECTIVITAT DE L'ELASTOGRAFIA HEPÀTICA EN LA DETECCIÓ PRECOÇ DE FIBROSI HEPÀTICA EN L'ATENCIÓ PRIMÀRIA.**

Els resultats d'aquest subestudi demostren que la detecció no invasiva de fibrosi hepàtica amb EH en la població general i, entre pacients amb factors de risc de malaltia hepàtica crònica, és rendible. Per dur a terme aquest subestudi, he disposat de dades provinents de 7 estudis prospectius (inclosos el present) que van realitzar cribratge de fibrosi hepàtica amb EH en població general i en pacients amb factors de risc de malaltia hepàtica crònica. Les dades dels pacients que s'havien sotmès a una biòpsia hepàtica es van utilitzar per definir els punts de tall diagnòstics de fibrosi hepàtica significativa. Un cop definits els millors punts de tall, es van aplicar a les 6 cohorts per avaluar les taxes de prevalença de fibrosi significativa. Aquestes dades es van utilitzar posteriorment per ajustar un model econòmic que compara 2 vies diferents per detectar fibrosi significativa, és a dir, la via de detecció mitjançant l'EH en comparació amb la via de detecció habitual (basada en l'augment de les transaminases). La raó fonamental per utilitzar la detecció no invasiva de fibrosi mitjançant EH com una intervenció de salut pública va ser aconseguir un diagnòstic més precoç i més fiable dels pacients, poder-los derivar de manera més oportuna des de l'atenció primària a l'atenció especialitzada, rebre un tractament adequat i seguir-los en programes de vigilància.

El present subestudi mostra que, independentment de la població d'estudi, el cribratge de fibrosi hepàtica amb algorismes optimitzats és una intervenció de salut pública altament rendible, amb una probabilitat mitjana d'estalvi de costos del 12%. Com era d'esperar, quan ens centrem en pacients amb factors de risc de malaltia HC, inclosos els pacients amb DM2, obesitat o consum de risc d'alcohol, el programa de detecció és encara més rendible. Les diferències entre la focalització de factors de risc representen reduccions de costos del voltant de 8,3-48,9% per aconseguir el mateix valor.

Com s'ha anat repetint al llarg de la tesi, la fibrosi hepàtica és el principal factor pronòstic dels pacients amb malalties HC. L'estadi de fibrosi determina la progressió de la malaltia cap a formes més greus, com la cirrosi i el desenvolupament de complicacions hepàtiques i mortalitat, independentment de l'etiologia de la malaltia (147,440). La fibrosi hepàtica pot ser reversible si es detecta a temps i s'implementen tractaments segons l'etiologia (480,481). Per tant, sota el prisma de les estratègies de salut pública, l'objectiu d'un programa de cribratge ha de ser la detecció precoç de pacients amb fibrosi o cirrosi significativa, amb alt risc de descompensació hepàtica o mort, per tal de promoure la regressió de la fibrosi hepàtica i millorar la supervivència. De fet, els presents resultats

confirmen que un programa de cribratge basat en la detecció de fibrosi hepàtica amb EH és rendible, especialment en estadis precoços de fibrosi i, com era d'esperar, una mica menor en pacients amb malaltia hepàtica avançada ( $\geq F4$ ).

Per l'estudi, es va utilitzar l'EH com a mètode de cribratge no invasiu de la fibrosi hepàtica. L'eficàcia de l'EH per detectar fibrosi hepàtica s'ha demostrat durant l'última dècada (482), però, la majoria dels estudis s'han realitzat en pacients amb malalties HC ja conegudes, com infeccions per VHB o VHC i, darrerament, FGNA (232). Els treballs amb els millors punts de tall per al diagnòstic de fibrosi en l'àmbit de l'atenció primària encara no estan consensuats (232). En l'estudi actual, el millor punt de tall per al diagnòstic de fibrosi significativa entre els pacients de la població general va ser de 9,1 kPa. Curiosament, els pacients amb biòpsia hepàtica de la població general tenien una alta prevalença de components de la SM, la majoria eren obesos i gairebé un terç presentava DM2, tots ells factors de risc de FGNA. A més, l'etiologia predominant, segons la biòpsia hepàtica, en aquests pacients va ser el FGNA. Per tant, podem suposar que el millor punt de tall per al diagnòstic de fibrosi significativa en el context de pacients amb factors de risc metabòlic de FGNA en la població general és de 9,1 kPa. D'altra banda, el límit de fibrosi significativa entre els pacients amb consum de risc d'alcohol va ser lleugerament superior (9,5 kPa). No obstant això, en la pràctica clínica podem suposar que qualsevol valor per sobre de 9,0-9,5 kPa pot indicar la presència de fibrosi hepàtica significativa en pacients amb factors de risc de FGNA o HA a l'entorn de la població general. Tot i que el model d'arbre de decisions basat en l'EH sembla ser el millor model en comparació amb els marcadors serològics (FIB-4, NFS) en els pacients sotmesos a biòpsia, no és en absolut perfecte. La gràfica de calibratge a través dels 3 algorismes indica el risc potencial de subestimació en majors probabilitats d'esdeveniments, quan s'observen etapes significatives de fibrosi. En aquest cas, l'impacte en els resultats de rendibilitat es presenta en forma de límit inferior. Això és anàleg a les proves fecals per a la detecció de càncer colorectal, que generalment subestimen la probabilitat de lesions precanceroses, mentre que al mateix temps redueixen el nombre de proves invasives necessàries. En el futur la prevenció de les malalties hepàtiques s'ha de centrar en la definició d'aquests llindars de decisió i les seves conseqüències en entorns del món real.

Una de les principals forteses de l'estudi va ser que un programa de detecció de fibrosi hepàtica, dirigit a pacients amb risc d'HA i poblacions obeses o diabètiques, és molt rendible. Per implementar el cribratge de fibrosi hepàtica, necessitaríem invertir entre 2.500 (població en risc) i 6.500 (població general) euros ajustats per paritat de poder

adquisitiu per guanyar un any extra de vida, ajustat per qualitat de vida. Des del punt de vista de la salut pública, qualsevol valor per sota d'un PIB per càpita es considera altament rendible (336). Un dels principals problemes al voltant de les estimacions de rendibilitat de les proves són els costos que representen. De manera que, la imputació de la mà d'obra podria resultar en una disminució del cost marginal, per tant, esbiaixar cap amunt les estimacions de costos. Les presents dades destaquen les conseqüències diagnòstiques i econòmiques específiques d'una intervenció de salut pública en hepatologia.

Si bé la implementació en si mateixa no és l'objectiu d'aquest estudi, en entorns públics, l'impacte pressupostari i les dificultats en la prestació de serveis públics haurien de ser considerats, com s'observa en les intervencions de cribratge preventiu en altres camps de la medicina (483-489). Curiosament, en comparació amb el cribratge de l'HCC en pacients amb HC (490), el cribratge de fibrosi hepàtica significativa ( $\geq F2$ ) comporta una millora deu vegades superior en termes d'eficiència, destacant la importància del diagnòstic precoç, la derivació cap a la medicina especialitzada i la vigilància i seguiment d'aquests pacients. En l'actual escenari d'una creixent epidèmia de FGNA, la implementació de programes de cribratge per detectar els pacients amb fibrosi significativa és fonamental. La implementació d'EH en l'àmbit de l'atenció primària permet la participació de recursos comunitaris, com ara les infermeres i els metges d'atenció primària per tal de maximitzar el valor de les intervencions (324).

Aquest subestudi presenta algunes limitacions que cal considerar. En primer lloc, només el 5,5% dels pacients inclosos en l'anàlisi es van sotmetre a biòpsia hepàtica. No obstant això, s'ha realitzat un anàlisi per avaluar el biaix i la incertesa de selecció de mostres potencials entorn de les estimacions de paràmetres del model econòmic, i ambdues anàlisis van ser robustes per excloure el biaix i la incertesa. En segon lloc, el model econòmic tenia diversos supòsits, principalment quant a l'atenció i l'estructura de costos, la taxa de progressió de la fibrosi i l'eficàcia del tractament. Per tenir en compte el nivell d'incertesa associat a les estimacions, es va realitzar una anàlisi probabilística de sensibilitat per a aquests paràmetres. Finalment, s'ha proposat que els marcadors serològics s'han d'utilitzar com a primer pas per la detecció de fibrosi hepàtica en la població general, deixant EH com a segon pas (115,339,482). Els presents resultats mostren que l'EH va tenir un millor rendiment que els marcadors serològics per la detecció de fibrosi tant en termes de precisió discriminatòria com de calibratge pel diagnòstic observat de predicció. Si un enfoc de diagnòstic, com s'ha comentat anteriorment, en dos passos utilitzant marcadors serològics seguit d'EH és més rendible

i estalvia costos en la població, s'ha de continuar insistint en el cribratge en futurs estudis.

En conclusió, un programa de cribratge per la detecció precoç de fibrosi hepàtica, mitjançant EH, als centres d'atenció primària és una intervenció altament rendible i potencialment estalviadora de costos. Aquest enfocament de detecció podria representar una valuosa estratègia de salut pública, especialment davant l'augment actual de la prevalença de FGNA.

## **RESUM I CONCLUSIONS**



Dels resultats obtinguts en els diferents subestudis de la present tesi doctoral es poden resumir els següents punts:

1. Estudi poblacional de persones aparentment sanes amb una participació del 63,2% de la població adscrita en l'àmbit de l'estudi, amb un total de subjectes inclosos de 3.014.
2. Les prevalences de les principals característiques clíniques de la població d'estudi van ser: 73% tenien entre sobrepès i obesitat; 10% diabètics; 26% hipertensió arterial; 28% síndrome metabòlica; 9% consum de risc d'alcohol.
3. Un 9% de la població té uns valors elevats de les transaminases. Cal remarcar la baixa prevalença (0,3%) trobada de subjectes amb virus de l'hepatitis C.
4. Un 38% dels subjectes presenten un fetge gras no alcohòlic segons el valor del FLI  $\geq$  60.
5. L'elastografia hepàtica transitòria és un bon mètode per al diagnòstic de fibrosi hepàtica en la població general, per la seva innocuïtat i fàcil execució.
6. Un elevat percentatge de subjectes de la població general tenen un augment de la rigidesa hepàtica, en un 9%, 5,8% i 3,6% segons els valors de la elastografia hepàtica de 6,8 kPa, 8,0 kPa i 9,0 kPa, respectivament.
7. Els factors de risc associats de forma independent a l'increment de rigidesa en l'elastografia hepàtica són el sexe masculí, l'augment de les transaminases, obesitat abdominal, hiperglucèmia, valors baixos de HDL, augment dels triglicèrids i la diabetis.
8. Hi ha hagut una relació significativa entre el fetge gras no alcohòlic segons el valor del FLI  $\geq$  60 i el valor de l'elastografia hepàtica.
9. Del total dels subjectes biopsiats, un 27% tenien una fibrosi significativa F2 o superior, sent el fetge gras no alcohòlic la troballa histològica més freqüent.
10. El millor punt de tall per determinar la presència de fibrosis va ser 9,2 kPa amb un percentatge d'afectació del 3,2% de la població.
11. La capacitat diagnòstica de l'elastografia hepàtica en la predicció de fibrosi hepàtica significativa va ser superior als marcadors serològics de fibrosi NFS, FIB-4 i les transaminases.



12. FLI va mostrar una correlació significativa amb un valor de l'elastografia de 9,2 kPa superior a NFS, FIB-4 i les transaminases.

13. Un algorisme basat en subjectes amb factors de risc de fibrosi hepàtica, un FLI per sobre de 60 i un valor de l'elastografia hepàtica per sobre de 9,2 kPa detecta dos tercers parts dels pacients amb fibrosi hepàtica i per tant serien els subjectes que s'haurien de derivar des de l'atenció primària a la medicina especialitzada.

14. L'algorisme utilitzant el FLI, en lloc del NFS o del FIB-4 és el que detecta un major nombre de pacients amb fibrosi significativa.

15. En els subjectes sense cap factor de risc no és necessari fer el cribratge, en qualsevol dels 3 algorismes, degut a que tenen un risc molt baix de fibrosi hepàtica.

16. Els diferents marcadors serològics de diagnòstic de FGNA estudiats van presentar una bona correlació entre ells, si bé el FLI va mostrar una major capacitat predictiva.

17. Qualsevol dels marcadors serològics de diagnòstic de FGNA es va associar significativament amb la presència de fetge gras en l'ecografia abdominal.

18. Els diferents marcadors de diagnòstic de fetge gras aporten una bona capacitat diagnòstica de fibrosi, si bé el FLI continua tenint el millor rendiment usant qualsevol dels 2 punts de tall de l'elastografia hepàtica (8,0 kPa o 9,2 kPa).

19. A part del NFS i el FIB-4 es van estudiar altres marcadors serològics de fibrosi presentant unes correlacions discretes entre ells.

20. Els únics marcadors que es van relacionar amb la presència de FGNA van ser el NFS, FIB-4 i l'índex Forns.

21. Tots els marcadors es van correlacionar significativament amb el resultat de l'elastografia hepàtica.

22. Va haver-hi també una relació positiva entre els diferents marcadors de fibrosi i la biòpsia hepàtica. Com més alteració histològica hi ha, els marcadors presenten valors més elevats.

23. Els marcadors serològics de diagnòstic de FGNA rendeixen millor que els de fibrosi. Si bé els de diagnòstic són més sensibles i els de fibrosi més específics.

24. L'estudi de tots els marcadors, tant de diagnòstic com de fibrosi, amb subjectes amb un o més factors de risc, mostra una bona correlació amb l'elastografia hepàtica, si bé el FLI obté el millor rendiment usant qualsevol dels dos punts de tall de l'elastografia hepàtica.

25. En relació al consum d'alcohol, del total de subjectes un 40,5% eren bevedors moderats mentre que un 9,1% eren bevedors de risc.

26. La prevalença d'obesitat, colesterol total, triglicèrids, transaminases, GGT i ferritina van ser superior en el grup de bevedors de risc.

27. El FLI  $\geq 60$  va ser més prevalent en els bevedors de risc, això suggereix una major prevalença d'esteatosi hepàtica en aquest grup de subjectes.

28. Va haver una major prevalença de fibrosi hepàtica segons el valor de l'elastografia hepàtica entre els bevedors de risc.

29. Els bevedors de risc amb fibrosi hepàtica significativa tenien una prevalença més elevada de síndrome metabòlica i els seus components.

30. La síndrome metabòlica i el consum de risc d'alcohol es van associar de forma independent amb una major fibrosi hepàtica.

31. L'estudi de cost-efectivitat es va realitzar amb una àmplia sèrie de subjectes procedents d'estudis de 5 països europeus i un d'Àsia, amb característiques clíniques diferents (població general, amb factors de risc metabòlic i consum d'alcohol).

32. En el conjunt de pacients amb biòpsies hepàtiques (n=352), es va trobar que un límit d'EH superior a 19,1 kPa mostrava una probabilitat condicional del 87,3% per l'estadi de fibrosi  $\geq F2$  i del 57,1% per a l'estadi F4 independentment de la població estudiada.

33. Per a valors d'EH per sota de 19,1 kPa, es van identificar diferents punts de tall òptims, que depenien de les poblacions estudiades: en la població general, es va trobar que un punt de tall d'EH de 9,1 kPa proporciona la millor precisió diagnòstica amb un VPN del 88,1% per el diagnòstic de fibrosi  $\geq F2$  en pacients per sota d'aquest punt de tall i una probabilitat del 57,6% en pacients per sobre d'aquest punt de tall.

34. En les cohorts amb pacients que tenien antecedents de consum de risc d'alcohol i/o SM es va obtenir un punt de tall òptim lleugerament superior per l'estratificació de la

fibrosi: amb EH inferior a 9,5 kPa, la probabilitat d'estadi de fibrosi  $\geq$  F2 va ser només del 9,7%; amb EH superior a 9,5 kPa, la probabilitat va augmentar al 52,4% per a aquesta població de risc.

35. Segons el model predictiu desenvolupat, un total del 3,9% (n=238) dels pacients de les cohorts de la població general tindrien fibrosi  $\geq$ F2, mentre que el 28,8% (n=157) del total de pacients amb factors de risc havien desenvolupat almenys un estadi F2 de fibrosi.

36. Una estratègia basada en l'estudi de la fibrosi hepàtica mitjançant l'elastografia hepàtica a les consultes d'atenció primària pot ser cost-efectiva.

En conclusió:

- Una proporció rellevant d'adults aparentment sans tenen augmentada la rigidesa hepàtica, indicant la presència de fibrosi hepàtica significativa, principalment relacionada amb el FGNA.
- Un algorisme basat en l'avaluació de fibrosi hepàtica utilitzant un valor d'EH  $\geq$  9.2 kPa en subjectes amb factors de risc de FGNA i FLI  $\geq$  60 permet la detecció de la majoria de subjectes amb fibrosi i redueix notablement el nombre de subjectes a cribar.
- Dels marcadors serològics estudiats per al diagnòstic de FGNA, el FLI és el que té una capacitat predictiva significativament més alta. A més, ha mostrat una bona correlació amb el resultat de l'ecografia abdominal.
- L'EH té una capacitat predictiva significativament superior als marcadors serològics de diagnòstic de fibrosi. Una elastografia  $\geq$  8 kPa seria un valor raonable per al diagnòstic de fibrosi, especialment en els pacients amb FGNA, encara que el millor punt de tall és el de  $\geq$  9,2 kPa.
- En pacients amb consum de risc d'alcohol, l'existència de SM s'associa a un increment notable del risc de fibrosi hepàtica significativa. Aquest increment del risc pot estar relacionat amb l'activitat inflamatòria sistèmica característica de la SM. Aquesta interacció entre consum d'alcohol i SM s'ha de tenir en compte especialment per adoptar mesures preventives a la població general.

- Un programa de cribratge per detectar fibrosi hepàtica, amb elastografia hepàtica als centres d'atenció primària, és una intervenció altament rendible i potencialment eficient, i podria representar una valuosa estratègia de salut pública, especialment davant l'increment progressiu de la prevalença de FGNA.
- Aquests resultats posen en relleu la importància del FGNA com un important problema de salut i suggereixen que cal prendre mesures preventives i terapèutiques eficaces per reduir l'impacte present i futur d'aquesta malaltia a la població.



## **BIBLIOGRAFIA**



1. Gandhi CR. Cellular Anatomy of the Liver (Hepatocyte, Biliary Epithelial Cells Kupffer Cells, Hepatic Stellate Cells). In: Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms, 1st. Edition (ed. L.M. McManus and R.N. Mitchell), 2014:1759-1769. Philadelphia, USA: Elsevier, INC.
2. McCuskey R. Anatomy of the liver. In: Zakim and Boyer's hepatology: a text book of liver disease, 6th edition (ed, T.D. Boyer, M.P. Manns and A.J. Sanyal), 2012:3-19. Philadelphia, USA: Elsevier, Inc.
3. Michapoulos GK. Liver regeneration. J Cell Physiol. 2007;213(2):286-300.
4. Sephel GC, Woodward SC. Repair, regeneration and fibrosis. In: Essentials of Rubin's pathology, 5th Edition (ed. E. Rubin, H.M. Reisner), 2009:36-70. Philadelphia, USA: Lippincott Williams and Wilkins.
5. Choi TY, Ninov V, Stainer DY, Shin D. Extensive conversion of hepatic biliary epithelial cells to hepatocytes after near total loss of hepatocytes in zebrafish. Gastroenterology. 2014;146(3):776-788.
6. Pauta M, Rotllan N, Fernández-Hernando A, Langhi C, Ribera J, Lu M et al. Akt-mediated foxo1 inhibition is required for liver regeneration. Hepatology. 2016;63(5):1660-1674.
7. Huch M. Regenerative biology: The versatile and plastic liver. Nature. 2015;517(7533):155-156.
8. Miyai K. Structural organization of the liver. In: Hepatotoxicology, 1st Edition /ed. R.G. Meeks, S.D. Harrison, R.J. Bull), 1991.1-66. Florida, USA: CRC Press, Inc.
9. Jansen PLM, Beuers U, Elferink O. Mechanisms of Bile Secretion. In: Zakim and Boyer's hepatology: a textbook of liver disease, 6th Edition (ed. T.D. Boyer, M.P. Manns and A.J. Sanyal). 2012:47-63. Philadelphia, USA: Elsevier, Inc.
10. Roskams T, Desmet VJ, Verslype C. Development, structure and function of the liver. In: MacSween's Pathology of the Liver, 5th Edition (ed. A.D. Burt, B.C. Portmann and L.D. Ferrell). 2007:1-74. Edinburg, UK: Elsevier, Inc.
11. Hasse JM. Nutrition aspects of liver failure. In: Nutrition and gastrointestinal disease, 1st edition (ed. M.H. DeLegge). 2008:85-106. Totowa, USA: Humana Press, Inc.
12. Hall JE, Guyton AC. Metabolismo de las proteínas. In: Guyton y Hall: Tratado de fisiología médica, 12ª Edición. 2011:953-966. Barcelona, España: Elsevier España, S.L.
13. Soriano H. Normal hepatocyte function and mechanisms of dysfunction. In: Pediatric gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis, management Volume 1. 4th Edition (ed. W.A. Walker, O. Goulet, R.E. Kleinman, P.M. Sherman, B.L. Shneider, I.R. Sanderson). 2004:89-97. Hamilton, USA: BC Decker Inc.
14. Nguyen P, Leray V, Diez M, Serisier S, Le Bloc'h J, Siliart B, Dumon H. Liver lipid metabolism. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2008;92(3):272-283.
15. Fukao T, Mitchell G, Sass JO, Hori T, Orii K, Aoyama Y. Ketone body metabolism and its defects. J Inherit Metab Dis. 2014;37(4):541-551.
16. Grant DM. Detoxification pathways in the liver. J Inherit Metab Dis. 1991;14(4):421-430.
17. Salguero ML. Detoxification. In: Integrative medicine, 2nd Edition (ed. D. Rakel). 2007:1123-1136.



18. Mukherjee M, Gollan JL. Assessment of liver function. In: *Sherlock's diseases of the liver and biliary system*, 12th Edition (ed. J.S. Dooley, A. Lok, A.K. Burroughs, J. Heathcote). 2011:20-35. Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
19. Schuppan D, Afdhal NH. Seminar Liver cirrhosis. *Lancet*. 2008(9615);371:838-851.
20. Rehm J, Samokhvalov AV, Shield KD. Global burden of alcoholic liver diseases. *J Hepatol*. 2013;59(1):160–68.
21. EASL. Clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. European Association for the Study of Liver. *J Hepatol*. 2012;57(2):399–420.
22. Murray CJ, Vos T, Lozano R, Naghavi M, Flaxman AD, Michaud C, et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2197-2223.
23. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all cause and cause-specific mortality for 240 causes of death 1990-2013: a systematic analysis for the global burden of disease study 2013. *Lancet*. 2015; 385(9963):117-171.
24. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol*. 2013;58(3):593-608.
25. Bell H, Jahnsen J, Kittang E, Raknerud N, Sandvik L. Long-term prognosis of patients with alcoholic liver cirrhosis: a 15-year follow-up study of 100 Norwegian patients admitted to one unit. *Scand J Gastroenterol*. 2004;39(9):858–863.
26. Jepsen P, Ott P, Andersen PK, Sorensen HT, Vilstrup H. Clinical course of alcoholic liver cirrhosis: a Danish population-based cohort study. *Hepatology*. 2010;51(5):1675–1682.
27. N'Kontchou G, Paries J, Htar MTT, Ganne-Carrie N, Costentin L, Grando-Lemaire V, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic or viral c cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(8):1062–1068.
28. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. European Association for the Study of the Liver, Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Hgado. *J Hepatol*. 2015;63(1):237-264.
29. O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ. Alcoholic liver disease. *Hepatology*. 2010; 51(1):307–328.
30. Lackner C, Spindelboeck W, Haybaeck J, Douschan P, Rainer F, Terracciano L, et al. Histological parameters and alcohol abstinence determine long-term prognosis in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol*. 2017; 66(3):610-618.
31. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med*. 2001;344(7):495–500.
32. Maharaj B, Maharaj RJ, Leary WP, Cooppan RM, Naran AD Pirie D, Pudifin DJ. Sampling variability and its influence on the diagnostic yield of percutaneous needle biopsy of the liver. *Lancet*. 1986;1(8480):523–525.
33. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1994;20(1 Pt 1):15–20.

34. Nguyen-Khac E, Thiele M, Voican C, Nahon P, Moreno C, Boursier J et al. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis in patients with alcohol-related liver disease by transient elastography: an individual patient data meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3(9):614-625.
35. 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(9262):1069–1975.
36. Boursier J, Vergniol J, Sawadogo A, Dakka T, Michalak S, Gallois Y, et al. The combination of a blood test and Fibroscan improves the non-invasive diagnosis of liver fibrosis. *Liver Int*. 2009;29(10):1507–1515.
37. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, et al. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem*. 2005;51(10):1867–1873.
38. 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(4):986-992.
39. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(2):518-526.
40. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43(6):1317-1325.
41. Lombardi R, Buzzetti E, Roccarina D, Tsochatzis EA. Non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2015;21(39):11044-11052.
42. Harris R, Harman DJ, Card TR, Aithal GP, Guha IN. Prevalence of clinically significant liver disease within the general population, as defined by non-invasive markers of liver fibrosis: a systematic review. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017;2(4):288-298.
43. Tsochatzis EA, Gurusamy KS, Ntaoula S, Cholongitas E, Davidson BR, Burroughs AK. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Hepatol*. 2011;54(4):650-659.
44. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chasnteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005;128(2):343–50.
45. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mai F, Kazemi F, et al. Non-invasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;41(1):48–54.
46. Singh S, Muir AJ, Dieterich DT, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute Technical review on the role of elastography in chronic liver diseases. *Gastroenterology*. 2017;152(6):1544-1577.
47. Nguyen-Khac E, Chatelain D, Tramier B, Decrombecque C, Robert B, Joly JP, et al. Assessment of asymptomatic liver fibrosis in alcoholic patients using fibroscan: prospective comparison with seven non-invasive laboratory tests. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(10):1188–1198.
48. Nahon P, Kettaneh A, Tengher-Barna I, Ziol M, de Lédinghen V, Douvin C, et al. Assessment of liver fibrosis using transient elastography in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol*. 2008;49(6):1062–1068.

49. Mueller S, Millonig G, Sarovska L, Friedrich S, Reimann FM, Pritsch M, et al. Increased liver stiffness in alcoholic liver disease: differentiating fibrosis from steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2010;16(8):966–972.
50. Gelsi E, Dainese R, Truchi R, Mariné-Barjoan E, Anty R, Autuori M, et al. Effect of detoxification on liver stiffness assessed by Fibroscan in alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res*. 2011;35(3):566–570.
51. Gianni E, Forte P, Galli V, Razzolini G, Bardazzi G, Annese V. Prospective evaluation of liver stiffness using transient elastography in alcoholic patients following abstinence. *Alcohol and Alcoholism*. 2017;52(1):42-47.
52. Pavlov CS, Casazza G, Nikolova D, Tsochatzis E, Glud C. Systematic review with meta-analysis: diagnostic accuracy of transient elastography for staging of fibrosis in people with alcoholic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(5):575-585.
53. WHO. Global hepatitis report, 2017. Geneva: World Health Organization, 2017.
54. Hutin Y, Nasrullah M, Easterbrook P, Nguimfack BD, Burrone E, Averhoff F, Bulterys M. Access to treatment for hepatitis B virus infection—worldwide 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2018; 67(28):773-777.
55. WHO. Preventing perinatal hepatitis B virus transmission: a guide for introducing and strengthening hepatitis B birth dose vaccination. 2015. <http://www.who.int/iris/handle/10665/208278> (accessed May 11, 2018).
56. WHO. Hepatitis B vaccines: WHO position paper—July 2017. *Wkly Epidemiol Rec*. 2017; 92(27): 369-392.
57. Seto WK, Lo YR, Pawlotsky JM, Yuen MF. Chronic hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2018;392(10161):2313-2324.
58. The Lancet. Towards elimination of viral hepatitis by 2030. *Lancet*. 2016;388(10042):308.
59. Davis JP. Experience with hepatitis A and B vaccines. *Am J Med*. 2005;118 (suppl 10A):7S-15S.
60. Lee C, Gong Y, Brok J, Boxall EH, Glud C. Effect of hepatitis B immunisation in newborn infants of mothers positive for hepatitis B surface antigen: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2006;332:328-336.
61. Zacharakis G, Kotsiou S, Papoutselis M, Vafiadis N, Tzara F, Pouliou E, et al. Changes in the epidemiology of hepatitis B virus infection following the implementation of immunisation programmes in northeastern Greece. *Euro Surveill*. 2009;14(32). Pii:19297.
62. Salleras L, Dominguez A, Bruguera M, Plans P, Espunes J, Costa J, et al. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection in pregnant women in Catalonia (Spain). *J Clin Virol*. 2009;44:329-332.
63. World Health Organization. Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. Geneva: World Health Organization; 2015.
64. Zhu MY, Zou X, Li Q, Yu DM, Yang ZT, Huang D, et al. A novel noninvasive algorithm for the assessment of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat*. 2017;24(7):589-598.
65. Hatzakis A, Wait S, Bruix J, Buti M, Carballo M, Cavaleri M, et al. The state of hepatitis B and C in Europe: report from the hepatitis B and C summit conference. *J Viral Hepat*. 2011;18 Suppl 1:1-16.

66. Garcia-Fulgueiras A, Garcia-Pina R, Morant C, Garcia-Ortuzar V, Genova R, Alvarez E. Hepatitis C and hepatitis B-related mortality in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009;21(8):895-901.
67. European Liver Patients Association. Report on hepatitis patient self-help in Europe; 2011. <http://www.hepbcpa.org/wp-content/uploads/2011/11/Report-on-Patient-Self-Help.pdf>.
68. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;60(2):392-420.
69. Li Y, Huang YS, Wang ZZ, Yang ZR, Sun F, Zhan SY, et al. Systematic review with meta-analysis: the diagnostic accuracy of transient elastography for the staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(4):458-469.
70. Tatsumi C, Kudo M, Ueshima K, Kitai S, Takahashi S, Inoue T, et al. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using serum fibrotic markers, transient elastography (FibroScan) and real-time tissue elastography. *Intervirol*. 2008;51 Suppl 1:27-33.
71. Goyal R, Mallick SR, Mahanta M, Kedia S, Shalimar H, Das P, et al. Fibroscan can avoid liver biopsy in Indian patients with chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28(11):1738-1745.
72. Cheng J, Hou J, Ding H, Chen G, Xie Q, Wang Y, et al. Validation of ten noninvasive diagnostic models for prediction of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *PLoS ONE*. 2015;10(12):e0144425.
73. Kim WR, Berg T, Asselah T, Flisiak R, Fung S, Gordon SC, et al. Evaluation of APRI and FIB-4 scoring systems for non-invasive assessment of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol*. 2016;64(4):773–780.
74. Teshale E, Lu M, Rupp LB, Holmberg SD, Moorman AC, Spradling P, et al. APRI and FIB-4 are good predictors of the stage of liver fibrosis in chronic hepatitis B: the Chronic Hepatitis Cohort Study (CHeCS). *J Viral Hepat*. 2014;21(12):917–920.
75. Xiao G, Yang J, Yan L. Comparison of diagnostic accuracy of aspartate aminotransferase to platelet ratio index and fibrosis-4 index for detecting liver fibrosis in adult patients with chronic hepatitis B virus infection: a systemic review and meta-analysis. *Hepatology*. 2015;61(1):292–302.
76. Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017;2(3):161-176.
77. European Union HCV Collaborators. Hepatitis C virus prevalence and level of intervention required to achieve the WHO targets for elimination in the European Union by 2030: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017;2(5):325-336.
78. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Von Overbeck J, Lloyd AR, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2001;34(4):809-816.
79. Muhlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B, Sroczynski G, Zeuzem S, Siebert U. HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity, and mortality. *BMC Public Health*. 2009;9:34.
80. Demetriou VL, van de Vijver DA, Hezka J, Kostrikis LG, Cyprus IN, Kostrikis LG. Hepatitis C infection among intravenous drug users attending therapyprograms in Cyprus. *J Med Virol*. 2010;82(2):263-270.

81. Jauffret-Roustide M, Le Strat Y, Couturier E, Thierry D, Rondy M, Quaglia M, et al. A national cross-sectional study among drug-users in France: epidemiology of HCV and highlight on practical and statistical aspects of the design. *BMC Infect Dis.* 2009;9:113.
82. Reimer J, Lorenzen J, Baetz B, Fischer B, Rehm J, Haasen C, et al. Multiple viral hepatitis in injection drug users and associated risk factors. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22(1):80-85.
83. Camoni L, Regine V, Salfa MC, Nicoletti G, Canuzzi P, Magliocchetti N, et al. Continued high prevalence of HIV, HBV and HCV among injecting and noninjecting drug users in Italy. *Ann Ist Super Sanita.* 2010;46(1):59-65.
84. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology.* 1997;26:62S–65S.
85. Younossi ZM. Hepatitis C infection: a systemic disease. *Clin Liver Dis.* 2017;21(3):449-453.
86. Di Bisceglie AM. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 1997;26:34S-38S.
87. McDonald SA, Hutchinson SJ, Bird SM, Mills PR, Hayes P, Dillon JF, et al. Excess morbidity in the hepatitis C-diagnosed population in Scotland, 1991–2006. *Epidemiol Infect.* 2011;139(3):344-353.
88. Neal KR, Trent Hepatitis CSG, Ramsay S, Thomson BJ, Irving WL. Excess mortality rates in a cohort of patients infected with the hepatitis C virus: a prospective study. *Gut.* 2007;56(8):1098-1104.
89. Marcellin P, Pequignot F, Delarocque-Astagneau E, Zarski JP, Ganne N, Hillon P, et al. Mortality related to chronic hepatitis B and chronic hepatitis C in France: evidence for the role of HIV coinfection and alcohol consumption. *J Hepatol.* 2008;48(2):200-207.
90. Haj-Ali Saflo O, Hernandez Guijo JM. [Cost-effectiveness of chronic hepatitis C treatment in Spain]. *Gastroenterol Hepatol.* 2009;32(7):472-482.
91. Liu S, Cipriano LE, Holodniy M, Owens DK, Goldhaber-Fiebert JD. New protease inhibitors for the treatment of chronic hepatitis C: a cost effectiveness analysis. *Ann Intern Med.* 2012;156(4):279-290.
92. Younossi ZM, Birerdinc A, Henry L. Hepatitis C infection: a multi-faceted systemic disease with clinical, patient reported and economic consequences. *J Hepatol.* 2016;65(1 Suppl):S109-119.
93. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C guidance: AASLD/IDSA recommendations for testing, Managing, and Treating Adults infected with Hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;62(3):932-954.
94. Rupp D, Bartenschlager R. Targets for antiviral therapy of hepatitis C. *Semin Liver Dis.* 2014;34(1):9-21.
95. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69 (2):461-511.
96. Calleja JL, Macias J, Fornas X, Garcia F, Berenguer M, Garcia Deltoro M, et al. Guidelines on treatment of hepatitis C virus infection. Spanish Association for the Study of the Liver (AEEH). *Gastroenterol Hepatol.* 2018;41(9):597-608.
97. Afdhal NH, Bacon BR, Patel K, Lawitz EJ, Gordon SC, Nelson DR, et al. Accuracy of fibroscan, compared with histology, in analysis of liver fibrosis in patients with hepatitis B or C: a United States multicenter study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(4):772-779.

98. Degos F, Perez P, Roche B, Mahmoudi A, Asselineau J, Voitot H, et al. Diagnostic accuracy of FibroScan and comparison to liver fibrosis biomarkers in chronic viral hepatitis: a multicenter prospective study (the FIBROSTIC study). *J Hepatol.* 2010;53(6):1013-1021.
99. Zarski JP, Sturm N, Desmorat H, Melin P, Raabe JJ, Bonny C, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis progression in hepatitis C patients retreated for 96 weeks with antiviral therapy: a randomized study. *Liver Int.* 2010;30(7):1049-1058.
100. Castera L, Sebastiani G, Le Bail B, de Ledinghen V, Couzigou P, Alberti A. Prospective comparison of two algorithms combining non-invasive methods for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2010;52(2):191-198.
101. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 2002;346(16):1221-1231.
102. Vernon G, Baranova A, Yonoussi ZM. Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(3):274-285.
103. Caballería L, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, et al. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010;22(1):24-32.
104. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle age population utilizing ultrasound and liver biopsy; a prospective study. *Gastroenterology.* 2011;140(1):124-131.
105. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease – A global public health perspective. *J Hepatol.* 2019;70(3):531-544.
106. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Castiglione A, Croce LS, Tiribelli C, et al. Incidence and natural course of fatty liver in the general population: the Dionysos study. *Hepatology* 2007;46(5):1387-1391.
107. Zois CD, Baltayiannis GH, Bekiari A, Goussia A, Karayiannis P, Doukas M, et al. Steatosis and steatohepatitis in postmortem material from Northwestern Greece. *World J Gastroenterol* 2010;16(31):3944-3949.
108. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease. Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016;64(1):73-84.
109. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance From the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2018;67(1):328-357
110. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE.* 2015;10(10): e0140908.
111. Doycheva I, Watt KD, Alkhoury N. Nonalcoholic fatty liver disease in adolescents and young adults: The next frontier in the epidemic. *Hepatology.* 2017;65(6):2100-2109.
112. Armstrong MJ, Houlihan DD, Bentham L, Shaw JC, Cramb R, Olliff S, et al. Presence and severity of non-alcoholic fatty liver disease in a large prospective primary care cohort. *J Hepatol.* 2012;56(1):234-240.
113. Said A, Gagovic V, Malecki K, Givens ML, Nieto FJ. Primary care practitioners survey of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol.* 2013;12(5):758-765.

114. Blais P, Husain N, Kramer JR, Kowalkowski M, El-Serag H, Kanwal F. Nonalcoholic fatty liver disease is underrecognized in the primary care setting. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(1):10-14.
115. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2019;156(5):1264-1281.
116. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016;64(6):1388-1402.
117. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Tessari R, Zenari L, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2007;30(5):1212-1218.
118. Williamson RM, Price JF, Glancy S, Perry E, Nee LD, Hayes PC, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis and nonalcoholic fatty liver disease in people with type 2 diabetes: the Edinburgh type 2 diabetes study. *Diabetes Care*. 2011;34(5):1139-1144.
119. Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review. *JAMA*. 2015;313(22):2263-2273.
120. Bril F, Cusi K. Management of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes: A call to action. *Diabetes Care*. 2017;40:419-430.
121. Doycheva I, Cui J, Nguyen P, Costa EA, Hooker J, Hofflich H, et al. Non-invasive screening of diabetics in primary care for NAFLD and advanced fibrosis by MRI and MRE. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43:83-95.
122. Kwok R, Choi KC, Wong GL, Zhang Y, Chan HL, Luk AQ, et al. Screening diabetic patients for non-alcoholic fatty liver disease with controlled attenuation parameter and liver stiffness measurements: A prospective cohort study. *Gut*. 2016;65:1359-1368.
123. Sayiner M, Koenig A, Henry L, Younossi ZM. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis in the United States and the rest of the world. *Clin Liver Dis*. 2016;20:205-214.
124. Koehler EM, Plompen EP, Schouten JN, Hansen BE, Darwish Murad S, Taimr P, et al. Presence of diabetes mellitus and steatosis is associated with liver stiffness in a general population: The Rotterdam study. *Hepatology*. 2016;63(1):138-147.
125. Poynard T, Lebray P, Ingiliz P, Varaut A, Varsat B, Ngo Y, et al. Prevalence of liver fibrosis and risk factors in a general population using non-invasive biomarkers (Fibro Test). *BMC Gastroenterol*. 2010;10:40.
126. Roulot D, Costes JL, Buyck JF, Warzocha U, Gambier N, Czernichow S, et al. Transient elastography as screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years. *Gut*. 2011;60(7):977-984.
127. Fung J, Lee CK, Chan M, Seto WK, Lai CL, Yuen MF. Hong Kong Liver Health Census Study Group High prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in the Chinese results from the Hong Kong liver health census. *Liver Int*. 2015;35(2):542-549.
128. Wong VW, Chu WC, Wong GL, Chan RS, Chim AM, Ong A, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and advanced fibrosis in Hong Kong Chinese: A population study using proton-magnetic resonance spectroscopy and transient elastography. *Gut*. 2012;61(3):409-415.

129. Africa JA, Behling CA, Brunt EM, Zhang N, Luo Y, Wells A, et al. In children with nonalcoholic fatty liver disease zone 1 steatosis is associated with advanced fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018 Mar;16(3):438-446.
130. Pais R, Barritt AS 4th, Calmus Y, Scatton O, Runge T, Lebray P, et al. NAFLD and liver transplantation: Current burden and expected challenges. *J Hepatol*. 2016;65(6):1245-1257.
131. Dyson J, Jaques B, Chattopadhyay D, Lochan R, Graham J, Das D, et al. Hepato-cellular cancer: The impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team. *J Hepatol*. 2014;60(1):110-117.
132. Paradis V, Zalinski S, Chelbi E, Guedj N, Degos F, Vilgrain V, et al. Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: A pathological analysis. *Hepatology*. 2009;49(3):851-859.
133. Mittal S, el-Serag HB, Sada YH, Kanwal F, Duan Z, Temple S, et al. Hepatocellular carcinoma in the absence of cirrhosis in United States Veterans is associated with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016;14(1):124-131.
134. Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardio-vascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(6):330-344.
135. Targher G, Byrne CD, Lonardo A, Zoppini G, Barbui C. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: A meta-analysis. *J Hepatol*. 2016;65(3):589-600.
136. Sanna C, Rosso C, Marietti M, Bugianesi E. Non-alcoholic fatty liver disease and extra-hepatic cancers. *Int J Mol Sci*. 2016;17(5).
137. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: Pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. *Semin Liver Dis*. 2012;32(1):3-13.
138. Vilar-Gomez E, Chalasani N. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *Journal of Hepatology*. 2017 ;68(2):305-315.
139. Castera L, Vilgrain V, Angulo P. Noninvasive evaluation of NAFLD. *Nature reviews. Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(11):666-675.
140. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996;24(2):289-293.
141. Nightingale K, Soo MS, Nightingale R, Trahey G. Acoustic radiation force impulse imaging: In vivo demonstration of clinical feasibility. *Ultrasound Med Biol*. 2002;28(2):227-235.
142. Muthupillai R, Lomas DJ, Rossman PJ, Greenleaf JF, Manduca A, Ehman RL. Magnetic resonance elastography by direct visualization of propagating acoustic strain waves. *Science*. 1995;269(5232):1854-2185.
143. Neuschwander-Tetri BA. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med*. 2017;15:45
144. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest*. 2005(2); 115:209-218.
145. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008;134(6):1655-1669.
146. Thein H, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology*. 2008;48(2):418-431.



147. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997;349(9055):825-832.
148. Pinzani M. Liver fibrosis. *Springer Semin Immunopathol*. 1999;21(4):475-490.
149. Trautwein C, Friedman SL, Schuppan D, Pinzani M. Hepatic fibrosis: Concept to treatment. *J Hepatol*. 2015;62(Suppl 1):S15-S24.
150. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*. 2008;88(1):125-172.
151. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest*. 2003;112(12):1776-1784.
152. Ellis EL, Mann DA. Clinical evidence for the regression of liver fibrosis. *J Hepatol*. 2012;56(5):1171-1180.
153. Maher JJ. Interactions between hepatic stellate cells and the immune system. *Semin Liver Dis*. 2001;21(3):417-426.
154. Notas G, Kisseleva T, Brenner D. NK and NKT cells in liver injury and fibrosis. *Clin Immunol*. 2009;130(1):16-26.
155. Li J, Qiu SJ, She WM, Wang FP, Gao H, Li L, et al. Significance of the balance between regulatory T (Treg) and T helper 17 (Th17) cells during hepatitis B virus related liver fibrosis. *PLoS One*. 2012;7:e39307.
156. Santodomingo-Garzon T, Swain MG. Role of NKT cells in autoimmune liver disease. *Autoimmun Rev*. 2011;10(12):793-800.
157. Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooley S. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis. *Front Biosci*. 2002;7:793-807.
158. Shek FW, Benyon RC. How can transforming growth factor beta be targeted usefully to combat liver fibrosis? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004;16(2):123-126.
159. Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Nakatani T, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 attenuates spontaneous liver fibrosis resolution in the transgenic mouse. *Hepatology*. 2002;36(4):850-860.
160. Tsukamoto H, Lu SC. Current concepts in the pathogenesis of alcoholic liver injury. *FASEB J*. 2001;15(8):1335-1349.
161. Wanless IR, Shiota K. The pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases: a four-step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis. *Semin Liver Dis*. 2004; 24(1):99-106.
162. Rockey DC. Hepatic fibrogenesis and hepatitis C. *Semin Gastrointest Dis*. 2000;11(2):69-83.
163. Bataller R, Paik YH, Lindquist JN, Lemasters JJ, Brenner DA. Hepatitis C virus core and nonstructural proteins induce fibrogenic effects in hepatic stellate cells. *Gastroenterology*. 2004; 126(2):529-540.
164. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med*. 2000;21(3):49-98.
165. Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2011;25(2):195-206.

166. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2095-2128.
167. Hernandez-Gea V, Friedman S. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:425-456.
168. Arthur MJ. Reversibility of liver fibrosis and cirrhosis following treatment for hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002;122(5):1525-1528.
169. Parés A, Caballería J, Bruguera M, Torres M, Rodes J. Histological course of alcoholic hepatitis. Influence of abstinence, sex and extent of hepatic damage. *J Hepatol*. 1986;2(1):33-42.
170. Dixon JB, Bhathal PS, Hughes NR, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: Improvement in liver histological analysis with weight loss. *Hepatology*. 2004;39(6):1647-1654.
171. Hammel P, Couvelard A, O'Toole D, Ratouis A, Sauvanet A, Flejou JF, et al. Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct. *N Engl J Med*. 2001;344(6):418-423.
172. Rockey DC. Fibrosis reversal after hepatitis C virus elimination. *Curr Opin Gastroenterol*. 2019;35(3):137-144
173. Kisseleva T, Cong M, Paik Y, Scholten D, Jiang C, Benner C, et al. Myofibroblasts revert to an inactive phenotype during regression of liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(24):9448-5.
174. Troeger JS, Mederacke I, Gwak GY, Dapito DH, Mu X, Hsu CC, et al. Deactivation of hepatic stellate cells during liver fibrosis resolution in mice. *Gastroenterology*. 2012;143(4):1073-1083.
175. Garcia-Tsao G, Bosch J. Management of varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *N Engl J Med*. 2010;362(9):823-832.
176. Morales-Ruiz M, Tugues S, Cejudo-Martín P, Ros J, Melgar-Lesmes P, Fernández-Llama P, et al. Ascites from cirrhotic patients induces angiogenesis through the phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathway. *J Hepatol*. 2005;43(1):85-91.
177. Ginès P, Cárdenas A, Arroyo V, Rodés J. Management of cirrhosis and ascites. *N Engl J Med*. 2004;350(16):1646-1654.
178. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology*. 2004;127(5 Suppl 1):S35-50.
179. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2011;365(12):1118-1127.
180. Greten TF, Papendorf F, Bleck JS, Kirchhoff T, Wohlberedt T, Kubicka S. Survival rate in patients with hepatocellular carcinoma: a retrospective analysis of 389 patients. *Br J Cancer*. 2005;92(10):1862-1868.
181. Fuster J, Charco R, Llovet JM, Bruix J, Garcia-Valdecasas JC. Liver transplantation in hepatocellular carcinoma. *Transpl Int*. 2005;18(3):278-282.
182. Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2012;379(9822):1245-1255.
183. Zein CO. Clearing the smoking in chronic liver disease. *Hepatology*. 2010;51(5):1487-1490.
184. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. New therapeutic paradigm for patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2012;56(5):413-416.

185. Dufour JF, DeLellis R, Kaplan MM. Reversibility of hepatic fibrosis in autoimmune hepatitis. *Ann Intern Med.* 1997;127(11):981-985.
186. Mato JM, Cámara J, Fernández de Paz J, Caballería L, Coll S, Caballero A, et al. S-adenosylmethionine in alcoholic liver cirrhosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multicenter clinical trial. *J Hepatol.* 1999;30(6):1081-1089.
187. Lieber CS, Weiss DG, Groszmann R, Paronetto F, Schenker S; Veterans Affairs Cooperative Study 391 Group. I. Veterans Affairs Cooperative Study of polyenylphosphatidylcholine in alcoholic liver disease: effects on drinking behavior by nurse/physician teams. *Alcohol Clin Exp Res.* 2003;27(11):1757-1764.
188. Bataller R, Sancho-Bru P, Ginés P, Brenner DA. Liver fibrogenesis: a new role for the renin-angiotensin system. *Antioxid Redox Signal.* 2005;7(9-10):1346-1355.
189. Colmenero J, Bataller R, Sancho-Bru P, Domínguez M, Moreno M, Fornés X, et al. Effects of losartan on hepatic expression of nonphagocytic NADPH oxidase and fibrogenic genes in patients with chronic hepatitis C. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009;297(4):G726-734.
190. Kim MY, Cho MY, Baik SK, Jeong PH, Suk KT, Jang YO, et al. Beneficial effects of candesartan, an angiotensin-blocking agent, on compensated alcoholic liver fibrosis - a randomized open-label controlled study. *Liver Int.* 2012;32(6):977-987.
191. Feld JJ, Jacobson IM, Hézode C, Asselah T, Ruane PJ, Gruener N, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection *N Engl J Med.* 2015;373(27):2599-2607.
192. Curry MP, O'Leary JG, Bzowej N, Muir AJ, Korenblat KM, Fenkel JM, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV in Patients with Decompensated Cirrhosis. *N Engl J Med.* 2015;373(27):2618-2628.
193. Reig M, Mariño Z, Perelló C, Iñarrairaegui M, Ribeiro A, Lens S, et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *J Hepatol.* 2016;65(4):719-726.
194. Mahady SE, George J. Exercise and diet in the management of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism.* 2016;65(8):1172-1182.
195. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Olmos B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2015;149(2):367-378.
196. Rotman Y, Sanyal AJ. Current and upcoming pharmacotherapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Gut.* 2017;66(1):180-190.
197. Augustin S, Graupera I, Caballería J. Hígado graso no alcohólico: una pandemia poco conocida. *Med Clin (Barc).* 2017;149(12):542-548.
198. Chalasani N, Clark WS, Martin LG, Kamean J, Khan MA, Patel NH, Boyer TD. Determinants of mortality in patients with advanced cirrhosis after transjugular intrahepatic portosystemic shunting. *Gastroenterology.* 2000;118(1):138-144.
199. Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut.* 2006;55 Suppl 6:vi1-12.
200. Roberts MS, Angus DC, Bryce CL, Valenta Z, Weissfeld L. Survival after liver transplantation in the United States: a disease-specific analysis of the UNOS database. *Liver Transpl.* 2004;10(7):886-897.

201. Williams R, Aspinall R, Bellis M, Camps-Walsh G, Cramp M, Dhawan A, et al. Addressing liver disease in the UK: a blueprint for attaining excellence in health care and reducing premature mortality from lifestyle issues of excess consumption of alcohol, obesity, and viral hepatitis. *Lancet*. 2014;384(9958):1953-1997.
202. Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. Pathobiology of liver fibrosis: A translational success story. *Gut*. 2015;64(5):830-841.
203. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A, Vanni E, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: A role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology*. 2008;48(3):792-798.
204. Menghini G. One-second needle biopsy of the liver. *Gastroenterology*. 1958;35(2):190-199.
205. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology*. 2009;49(3):1017-1044.
206. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *J Hepatol*. 2007;47(4):598-607.
207. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1994;20(1 Pt 1):15-20.
208. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995;22(6):696-699.
209. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol*. 1991;13(3):372-374.
210. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1(5):431-435.
211. Everhart JE, Wright EC, Goodman ZD, Dienstag JL, Hoefs JC, Kleiner DE, et al. Prognostic value of Ishak fibrosis stage: findings from the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis trial. *Hepatology*. 2010;51(2):585-594.
212. Neumann UP, Berg T, Bahra M, Seehofer D, Langrehr JM, Neuhaus R, et al. Fibrosis progression after liver transplantation in patients with recurrent hepatitis C. *J Hepatol*. 2004;41(5):830-836.
213. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(6):1449-1457.
214. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pappas NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(10):2614-2618.
215. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol*. 2003;39(2):239-244.
216. Rousselet MC, Michalak S, Dupré F, Croué A, Bedossa P, Saint-André JP, et al. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology*. 2005;41(2):257-264.
217. Rozario R, Ramakrishna B. Histopathological study of chronic hepatitis B and C: a comparison of two scoring systems. *J Hepatol*. 2003;38(2):223-229.

218. Perrault J, McGill DB, Ott BJ, Taylor WF. Liver biopsy: complications in 1000 inpatients and outpatients. *Gastroenterology*. 1978;74(1):103-106.
219. McGill DB, Rakela J, Zinsmeister AR, Taylor WF. A 21-year experience with major hemorrhage after percutaneous liver biopsy. *Gastroenterology*. 1990;99(5):1396-1400.
220. Van Thiel DH, Gavaler JS, Wright H, Tzakis A. Liver biopsy. Its safety and complications as seen at a liver transplant center. *Transplantation*. 1993;55(5):1087-1090.
221. Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace ND, Burroughs AK, Planas R, et al. Beta-blockers to prevent gastroesophageal varices in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*. 2005;353(21):2254-2261.
222. Ripoll C, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace N, Burroughs AK et al. Portal Hypertension Collaborative Group. Hepatic venous pressure gradient predicts development of hepatocellular carcinoma independently of severity of cirrhosis. *J Hepatol*. 2009;50(5):923-928.
223. Blasco A, Forns X, Carrión JA, García-Pagán JC, Gilabert R, Rimola A, et al. Hepatic venous pressure gradient identifies patients at risk of severe hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Hepatology*. 2006;43(3):492-499.
224. Castera L, Pinzani M. Biopsy and non-invasive methods for the diagnosis of liver fibrosis: does it take two to tango? *Gut*. 2010;59(7):861-866.
225. Mehta SH, Lau B, Afdhal NH, Thomas DL. Exceeding the limits of liver histology markers. *J Hepatol*. 2009;50(1):36-41.
226. Poynard T, Halfon P, Castera L, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Ratziu V et al. FibroPaca Group. Standardization of ROC curve areas for diagnostic evaluation of liver fibrosis markers based on prevalences of fibrosis stages. *Clin Chem*. 2007;53(9):1615-1622.
227. Poynard T, Halfon P, Castera L, Charlotte F, Le Bail B, Munteanu M et al. FibroPaca Group. Variability of the area under receiver operating characteristic curves in the diagnostic evaluation of liver fibrosis markers: impact of biopsy length and fragmentation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;25(6):733-739.
228. Martinez SM, Crespo G, Navasa M, Forns X. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Hepatology*. 2011;53(1):325-335.
229. Caballeria LI, Torán P, Caballeria J. Marcadores de fibrosis hepática. *Med Clin (Barc)*. 2018;150(8):310-316.
230. Berzigotti A, Abraldes JG, Tandon P, Erice E, Gilabert R, García-Pagan JC, et al. Ultrasonographic evaluation of liver surface and transient elastography in clinically doubtful cirrhosis. *J Hepatol*. 2010;52(6):846-853.
231. Berzigotti A, Ashkenazi E, Reverter E, Abraldes JG, Bosch J. Non-invasive diagnostic and prognostic evaluation of liver cirrhosis and portal hypertension. *Dis Markers*. 2011;31(3):129-138.
232. Friedrich-Rust M, Poynard T, Castera L. Critical comparison of elastography methods to assess chronic liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(7):402-411.
233. Paparo F, Corradi F, Cevasco L, Revelli M, Marziano A, Molini L, et al. Real-time elastography in the assessment of liver fibrosis: a review of qualitative and semi-quantitative methods for elastogram analysis. *Ultrasound Med Biol*. 2014;40(9):1923-1933.
234. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 2003;29(12):1705-1713.

235. Vizzutti F, Arena U, Romanelli RG, Rega L, Foschi M, Colagrande S, et al. Liver stiffness measurement predicts severe portal hypertension in patients with HCV-related cirrhosis. *Hepatology*. 2007;45(5):1290-1297.
236. Roulot D, Czernichow S, Le Clesiau H, Costes JL, Vergnaud AC, Beaugrand M. Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *J Hepatol*. 2008;48(4):606-613.
237. Castera L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13.369 examinations. *Hepatology*. 2010;51(3):828-835.
238. Berzigotti A, de Gottardi A, Vukotic R, Siramolpiwat S, Abraldes JG, García-Pagan JC, et al. Effect of meal ingestion on liver stiffness in patients with cirrhosis and portal hypertension. *PLoS One*. 2013;8:e58742.
239. Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, Haussinger D. Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology*. 2008;47(2):592-599.
240. Thabut JB, Thepot V, Nalpas B, et al. Rapid decline of liver stiffness following alcohol withdrawal in heavy drinkers. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012;36(8):1407-1411.
241. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol*. 2008;48(5):835-847.
242. Boursier J, Zarski JP, de Ledinghen V, Rousselet MC, Sturm N, Lebaill B, et al. Determination of reliability criteria for liver stiffness evaluation by transient elastography. *Hepatology*. 2013;57(3):1182-1191.
243. Schwabl P, Bota S, Salzl P, Mandorfer M, Payer BA, Ferlitsch A, et al. New reliability criteria for transient elastography increase the number of accurate measurements for screening of cirrhosis and portal hypertension. *Liver Int*. 2015;35(2):381-390.
244. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: A meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008;134(4):960-974.
245. Ganne-Carrié N, Ziol M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Castera L, et al. Accuracy of liver stiffness measurement for the diagnosis of cirrhosis in patients with chronic liver diseases. *Hepatology*. 2006;44(6):1511-1517.
246. Castera L. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatol Int*. 2011;5(2):625-634.
247. Bamber J, Cosgrove D, Dietrich CF, Fromageau J, Bojunga J, Calliada F, et al. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Ultrasound Elastography. Part 1: Basic Principles and Technology. 2013;169-184.
248. Carrión JA, Navasa M, Bosch J, Bruguera M, Gilibert R, Forns X. Transient elastography for diagnosis of advanced fibrosis and portal hypertension in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2006;12(12):1791-1798.
249. Thabut D, Moreau R, Lebrec D. Noninvasive assessment of portal hypertension in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2011;53(2):683-694.
250. Carrión JA, Forns X, Navasa M. Early assessment of liver stiffness identifies two different patterns of liver fibrosis progression in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Hepatol*. 2008;48:S48-S49.

251. Vergniol J, Foucher J, Terrebonne E, Bernard PH, le Bail B, Merrouche W et al. Noninvasive tests for fibrosis and liver stiffness predict 5-year outcomes of patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2011;140(7):1970-1979.
252. Viganò M1, Paggi S, Lampertico P, Fraquelli M, Massironi S, Ronchi G et al. Dual cut-off transient elastography to assess liver fibrosis in chronic hepatitis B: a cohort study with internal validation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(3):353-362.
253. Wong VWS, Vergniol J, Wong GLH, Foucher J, Chan HLY, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;51(2):454-462.
254. Myers RP, Pomier-Layrargues G, Kirsch R, Pollett A, Duarte-Rojo A, Wong D et al. Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients. *Hepatology*. 2012;55(1):199-208.
255. de Lédinghen V, Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chu SH, et al. Diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement: comparison between M and XL probe of FibroScan®. *J Hepatol*. 2012;56(4):833-839.
256. Myers RP, Pomier-Layrargues G, Kirsch R, Pollett A, Beaton M, Levstik M, et al. Discordance in fibrosis staging between liver biopsy and transient elastography using the FibroScan XL probe. *J Hepatol*. 2012;56(3):564-570.
257. Wong GL, Chan HL, Choi PC, Chan AW, Lo AO, Chim AM, Wong VW. Association between anthropometric parameters and measurements of liver stiffness by transient elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(3):295-302.
258. Karlas T, Petroff D, Sasso M, Fan JG, Mi YQ, de Lédinghen V, et al. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J Hepatol*. 2017;66(5):1022-1030.
259. Staugaard B, Christensen PB, Mössner B, Hansen JF, Madsen BS, Søholm J, et al. Feasibility of transient elastography versus real-time two-dimensional shear wave elastography in difficult-to-scan patients. *Scand J Gastroenterol*. 2016;51(11):1354-1359.
260. Ginès P, Graupera I, Lammert F, Angeli P, Caballería LI, Krag A, et al. Screening for liver fibrosis in the general population: A call for action. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2016; 1:256-260.
261. Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Poupon R, et al. Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTETM guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med Biol*. 2010;36(11):1825-1835.
262. Lu Q, Ling W. Ultrasound elastography in the assessment of liver fibrosis. In: *Operative techniques in liver resection*, 1<sup>st</sup> edition (ed. L. Yan). 2016:53-64. Springer Netherlands.
263. Jeong WK, Lim HK, Lee HK, Jo JM, Kim Y. Principles and clinical application of ultrasound elastography for diffuse liver disease. *Ultrasonography*. 2014;33(3):149-160.
264. Boursier J, Isselin G, Fouchard-Hubert I, Oberti F, Dib N, Lebigot J et al. Acoustic radiation force impulse: a new ultrasonographic technology for the widespread noninvasive diagnosis of liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol hepatol*. 2010;22(9):1074-1084.
265. Rizzo L, Calvaruso V, Cacopardo B, Alessi N, Attanasio M, Petta S et al. Comparison of transient elastography and acoustic radiation force impulse for non-invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(12):2112-2120.

266. Palmeri ML1, Wang MH, Rouze NC, Abdelmalek MF, Guy CD, Moser B et al. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2011;55(3):666-672.
267. Crespo G, Fernández-Varo G, Mariño Z, Casals G, Miquel R, Martínez SM et al. ARFI, FibroScan, ELF, and their combinations in the assessment of liver fibrosis: a prospective study. *J Hepatol.* 2012;57(2):281-287.
268. Nierhoff J, Chávez Ortiz AA, Herrmann E, Zeuzem S, Friedrich-Rust M. The efficiency of acoustic radiation force impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Eur Radiol.* 2013;23(11):3040-3053.
269. Rouvière O, Yin M, Dresner MA, Rossman PJ, Burgart LJ, Fidler JL, Ehman RL. MR elastography of the liver: preliminary results. *Radiology.* 2006;240(2):440-448.
270. Huwart L, Sempoux C, Salameh N, Jamart J, Annet L, Sinkus R et al. Liver fibrosis: noninvasive assessment with MR elastography versus aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index. *Radiology.* 2007;245(2):458-466.
271. Chen J, Talwalkar JA, Yin M, Glaser KJ, Sanderson SO, Ehman RL. Early detection of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease by using MR elastography. *Radiology.* 2011;259(3):749-756.
272. Ferraioli G1, Tinelli C, Dal Bello B, Zicchetti M, Filice G, Filice C; Liver Fibrosis Study Group. Accuracy of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C: a pilot study. *Hepatology.* 2012;56(6):2125-2133.
273. Baranova A, Lal P, Biredinc A, Younossi ZM. Non-invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterol.* 2011;11:91.
274. Fernández-Varo G. Diagnóstico y seguimiento de la fibrosis hepática mediante marcadores séricos directos (ELF). *Gastroenterol Hepatol.* 2012; 35 (Supl 2):10-16.
275. Sud A, Hui JM, Farrell GC, Bandara P, Kench JG, Fung C et al. Improved prediction of fibrosis in chronic hepatitis C using measures of insulin resistance in a probability index. *Hepatology.* 2004;39(5):1239-1247.
276. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology.* 2007;45(4):846-854.
277. Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2007;45(2):297-306.
278. Calès P, de Ledinghen V, Halfon P, Bacq Y, Leroy V, Boursier J et al. Evaluating the accuracy and increasing the reliable diagnosis rate of blood tests for liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Liver Int.* 2008;28(10):1352-1362.
279. Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratziu V, Imbert-Bismut F, et al. Meta-analyses of Fibro Test diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterol.* 2007;7:40.
280. Williams, AL, Hoofnagle JH. Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferase in chronic hepatitis. Relationship to cirrhosis. *Gastroenterology.* 1988;95:734-739.
281. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. Comparison with liver biopsy and FibroTest. *Hepatology.* 2007;46(1):32-36.



282. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33(5):525-540.
283. Hui AY, Chan HL, Wong VW, Liew CT, Chim AM, Chan FK, et al. Identification of chronic hepatitis B patients without significant liver fibrosis by a simple noninvasive predictive model. *Am J Gastroenterol.* 2005;100(3):616-623.
284. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology* 2008;47(2):455-460.
285. McPherson S, Hardy T, Dufour JF, Petta S, Romero-Gomez M, Allison M, et al. Age as a confounding factor for the accurate non-invasive diagnosis of advanced NAFLD fibrosis. *Am J Gastroenterol.* 2017;112(5):740-751.
286. Boursier J, de Ledinghen V, Leroy V, Anty R, Francque S, Salmon D, et al. A stepwise algorithm using an at-a-glance first-line test for the non-invasive diagnosis and advanced liver fibrosis and cirrhosis. *J Hepatol.* 2017;66(6):1158-1165.
287. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, Tiribelli C. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol.* 2006;6:33.
288. Koehler EM, Schouten JN, Hansen BE, Hofman A, Stricker BH, Janssen HL. External validation of the fatty liver index for identifying nonalcoholic fatty liver disease in a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11(9):1201-1204.
289. Sebastiani G. Serum biomarkers for the non-invasive diagnosis of liver fibrosis: the importance of being validated. *Clin Chem LabMed.* 2012;50(4):595-597.
290. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D et al. European Liver Fibrosis Group: Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology.* 2004;127(6):1704-1713.
291. Guéchet 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(4):558-563.
292. Parés A, Deulofeu R, Giménez A, Caballería L, Bruguera M, Caballería J et al. Serum hyaluronate reflects hepatic fibrogenesis in alcoholic liver diseases and is useful as a marker of fibrosis. *Hepatology.* 1996;24(6):1399-1403.
293. McHutchison JG, Blatt LM, de Medina M, Craig JR, Conrad A, Cchiff ER 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(8):945-951.
294. Trocme C, Leroy V, Sturm N, Hilleret MN, Bottari S, Morel F, Zarski JP. Longitudinal evaluation of a fibrosis index combining MMP-1 and PIIINP compared with MMP-9, TIMP-1 and hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C treated by interferon-alpha and ribavirin. *J Viral Hepat.* 2006;13(10):643-651.
295. Ueno T, Inizuka S, Torimura T, Oohira H, Ko H, Obata K et al. Significance of serum type-IV collagen levels in various liver diseases. Measurement with a one-step sandwich enzyme immunoassay using monoclonal antibodies with specificity for pepsin-solubilized type-IV collagen. *Scand J Gastroenterol.* 1992;27(6):513-520.

296. Boeker KH, Haberkorn CL, Michels D, Flemming P, Manne 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(1-2):71-81.
297. Parkers J, Guha IN, Roderick P, Harris S, Cross R, Manos MM et al. Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test accurately identifies liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2011;18(1):23-31.
298. Tremblant PM, Lampertico P, Parkers J, Tanwar S, Viganò M, Facchetti F et al. Performance of Enhanced Liver Fibrosis test and comparison with transient elastography in the identification of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B infection. *J Viral Hepat*. 2014;21(6):430-438.
299. Lichtinghagen R, Pietsch D, Bantel H, Manns MP, Brand K, Bahr MJ. The Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score: normal values, influence factors and proposed cut-off values. *J Hepatol*. 2013;59(2):236-242.
300. Mayo MJ, Parkes J, Adams-Huet B, Combes B, Mills AS, Markin RS et al. Prediction of clinical outcomes in primary biliary cirrhosis by serum enhanced liver fibrosis assay. *Hepatology*. 2008;48(5):1549-1557.
301. Grigorescu M. Noninvasive biochemical markers of liver fibrosis. *J Gastrointest Liver Dis*. 2006;15(2):149-159.
302. Ngo Y, Benhamou Y, Thibault V, Inqiliz P, Munteanu M, Lebray P et al. An accurate definition of the status of inactive hepatitis B virus carrier by a combination of biomarkers (Fibro Test-Acti Test) and viral load. *Plos One*. 2008;3:e2573.
303. Ghany MG, Lok AS, Everhart JE, Everson GT, Lee WM, Curto TM et al. Predicting clinical and histological outcomes based on standard laboratory tests in advanced chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2010;138(1):136-146.
304. D'Arondel C, Munteanu M, Moussalli J, Thibault V, Naveau S, Simon A et al. A prospective assessment of an "a la carte" regimen of PEG-interferon alpha2b and ribavirin combination in patients with chronic hepatitis C using biochemical markers. *J Viral Hepat*. 2006;13(3):182-189.
305. Guéchet J, Lasnier E, Sturm N, Paris A, Zarski JP; ANRS HC EP 23 Fibrostar study group. Automation of the Hepascore and validation as a biochemical index of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C from the ANRS HC EP 23 Fibrostar cohort. *Clin Chim Acta*. 2010;411(1-2):86-91.
306. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama*. 2001;285(19):2486-2497.
307. Lupsor M, Badea R, Ștefănescu H, Grigorescu M, Serban A, Radu C, et al. Performance of unidimensional transient elastography in staging non-alcoholic steatohepatitis. *J Gastrointest Liver Dis*. 2010;19(1):53-60.
308. Yoneda M, Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Endo H, Iida H, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Liver Dis*. 2008;40(5):371-378.
309. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123(5):1705-1725.
310. Castera L. Non-invasive tests for liver fibrosis in NAFLD: Creating pathways between primary healthcare and liver clinics. *Liver International*. 2020;40(suppl.1):77-81.

311. Lee JH, Kim D, Kim HJ, Lee CH, Yang JI, Kim W, et al. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 503-508.
312. Kahn HS. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC Cardiovasc Disord*. 2005; 5:26.
313. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NALFD clinical scoring system for identifying patient without advanced disease. *Gut*. 2008;57:1441-1447.
314. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. for European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2004;127:1704-1713.
315. Dunn, W. et al. Modest alcohol consumption is associated with decreased prevalence of steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J. Hepatol*. 2012;57: 384-391.
316. Hajifathalian, K., Torabi Sagvand, B. & McCullough, A. J. Effect of Alcohol Consumption on Survival in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A National Prospective Cohort Study. *Hepatology*. 2019;70:511-521.
317. Chang, Y. et al. Low Levels of Alcohol Consumption, Obesity, and Development of Fatty Liver With and Without Evidence of Advanced Fibrosis. *Hepatology*. 2020;71:861-873.
318. Åberg, F. et al. Risks of Light and Moderate Alcohol Use in Fatty Liver Disease: Follow-Up of Population Cohorts. *Hepatology*. 2020;71:835-848.
319. Naveau, S. et al. Excess weight risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology*. 1997;25: 108-111.
320. Stepanova, M., Rafiq, N. & Younossi, Z. M. Components of metabolic syndrome are independent predictors of mortality in patients with chronic liver disease: A population-based study. *Gut*. 2010;59:1410-1415.
321. Liu, B., Balkwill, A., Reeves, G., Beral, V. & Million Women Study Collaborators. Body mass index and risk of liver cirrhosis in middle aged UK women: prospective study. *BMJ*. 2010;340: 912.
322. Hart, C. L., Morrison, D. S., Batty, G. D., Mitchell, R. J. & Davey Smith, G. Effect of body mass index and alcohol consumption on liver disease: analysis of data from two prospective cohort studies. *BMJ*. 2010;340:c1240.
323. Kalinowski, A. & Humphreys, K. Governmental standard drink definitions and low-risk alcohol consumption guidelines in 37 countries. *Addiction*. 2016;111:1293-1298.
324. Caballería L, Pera G, Arteaga I, Rodríguez L, Alumà A, Morillas RM, et al. High prevalence of liver fibrosis among European adults with unknown liver disease: a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:1138-1145.
325. Fabrellas N, Hernández R, Graupera I, Solà E, Ramos P, Martín N, et al. Prevalence of hepatic steatosis as assessed by controlled attenuation parameter (CAP) in subjects with metabolic risk factors in primary care. A population-based study. *PLoS One*. 2018;13:e0200656.
326. Thiele M, Detlefsen S, Sevelsted Møller L, Madsen BS, Fuglsang Hansen J, Fiolla AD, et al. Transient and 2-dimensional shear-wave elastography provide comparable assessment of alcoholic liver fibrosis and cirrhosis. *Gastroenterology*. 2016;150:123-133.

327. Harman DJ, Ryder SD, James MW, Jelpke M, Ottey DS, Wilkes EA, et al. Direct targeting of risk factors significantly increases the detection of liver cirrhosis in primary care: a cross-sectional diagnostic study utilising transient elastography. *BMJ Open*. 2015;5:e007516.
328. Arslanow A, Baum C, Lammert F, Stokes CS. Nichtinvasive Früherkennung von Lebererkrankungen im Rahmen der betrieblichen Gesundheitsförderung. *Zentralblatt Für Arbeitsmedizin, Arbeitsschutz Und Ergonomie*. 2017;67:201-210.
329. European Association for the Study of the Liver, Electronic address: easloffice@easloffice.eu M, European Association for the Study of the Liver A, Lackner C, Mathurin P, Moreno C, Spahr L, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of alcohol-related liver disease. *J Hepatol*. 2018;69:154-181.
330. Hothorn T, Hornik K, Zeileis A. Unbiased recursive partitioning: a conditional inference framework. *J Comput Graph Stat*. 2006;15:651-674.
331. Holmes G, Pfahringer B, Kirkby R. Multiclass Alternating Decision Trees. *Proc 13th Eur Conf Mach Learn (ECML '02)*, 2002;2430:161-172.
332. Chawla NV, Bowyer KW, Hall LO, Kegelmeyer WP. SMOTE: Synthetic minority over-sampling technique. *J Artif Intell Res*. 2002. <https://doi.org/10.1613/jair.953>.
333. Wang Y, Luangkesorn L, Shuman LJ. Best-subset selection procedure. *Proc Winter Simul Conf*. 2011:4310-4318.
334. R Core Team R Foundation for Statistical Computing, Vienna A. R: A language and environment for statistical computing, 2016. n.d.
335. Tanajewski L, Harris R, Harman DJ, Aithal GP, Card TR, Gkountouras G, et al. Economic evaluation of a community-based diagnostic pathway to stratify adults for non-alcoholic fatty liver disease: a Markov model informed by a feasibility study. *BMJ Open*. 2017;7.
336. Marseille E, Larson B, Kazi DS, Kahn JG, Rosen S. Thresholds for the costeffectiveness of interventions: alternative approaches. *Bull World Health Organ*. 2015;93:118-124.
337. West J, Card TR. Reduced mortality rates following elective percutaneous liver biopsies. *Gastroenterology*. 2010;139:1230-1237.
338. Wright D. Incremental Cost-Effectiveness Ratio (ICER). *York Heal Econ Consort* 2017. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4733.2004.75003.x/full>.
339. Tsochatzis EA, Newsome PN. Non-alcoholic fatty liver disease and the interface between primary and secondary care. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3:509-517
340. Williams R, Alexander G, Armstrong I, Baker A, Bhala N, Camps-Walsh G, et al. Disease burden and costs from excess alcohol consumption, obesity, and viral hepatitis: fourth report of the Lancet Standing Commission on Liver Disease in the UK. *Lancet*. 2018;391:1097-1107.
341. You SC, Kim KJ, Kim SU, Kim BK, Park JY, Kim DY, et al. Factors associated with significant liver fibrosis assessed using transient elastography in general population. *World J Gastroenterol*. 2015;21:1158-1166.
342. Alzamora MT, Baena-Díez JM, Sorribes M, Forés R, Toran P, Vicheto M, et al. Peripheral Arterial Disease study (PERART): prevalence and predictive values of asymptomatic peripheral arterial occlusive disease related to cardiovascular morbidity and mortality. *BMC Public Health*. 2007;7:348.
343. Colombo S, Belloli L, Zaccanelli M, Badia E, Jomoletti C, Buonocore M, et al. Normal liver stiffness and its determinants in healthy blood donors. *Dig Liver Dis*. 2011;43:231-236.

344. Salles N, Dussarat P, Foucher J, Villars S, de Lédighen V. Non-invasive evaluation of liver fibrosis by transient elastography and biochemical markers in elderly inpatients. *Gastroenterol Clin Biol*. 2009;33:126-132.
345. Das K, Sarkar R, Ahmed SM, Mridha AR, Mukherjee PS, Dhali G, et al. "Normal" liver stiffness measure (LSM) values are higher in both lean and obese individuals: a population-based study from a developing country. *Hepatology*. 2012;55:584-593.
346. Şirli R, Sporea I, Tudora A, Deleanu A, Popescu A. Transient Elastographic Evaluation of Subjects Without Known Hepatic Pathology: Does Age Change the Liver Stiffness? *J Gastrointestin Liver Dis*. 2009;18:57-60.
347. Hoare M, Das T, Alexander G. Ageing, telomeres, senescence, and liver injury. *J Hepatol*. 2010;53:950-961.
348. Wynne HA, James OF. The ageing liver. *Age Ageing*. 1990;19:1-3.
349. Schmucker DL, Sanchez H. Liver regeneration and aging: a current perspective. *Curr Gerontol Geriatr Res*. 2011;2011:526379.
350. Gagliano N, Arosio B, Grizzi F, Masson S, Tagliabue J, Dioguardi N, et al. Reduced collagenolytic activity of matrix metalloproteinases and development of liver fibrosis in the aging rat. *Mech Ageing Dev*. 2002;123:413-425.
351. Ahmed MH, Husain NEO, Almobarak AO. Nonalcoholic Fatty liver disease and risk of diabetes and cardiovascular disease: what is important for primary care physicians? *J Fam Med Prim Care*. 2015;4:45-52.
352. WHO Consultation on Obesity. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization; 2000.
353. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Informe Anual del Sistema Nacional de Salud 2013. 2013:234.  
[http://www.msssi.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/equidad/Informeannual2013/Informe\\_2013\\_SNS\\_WEB.pdf](http://www.msssi.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/equidad/Informeannual2013/Informe_2013_SNS_WEB.pdf) (accessed April 24, 2017).
354. Valenti L, Bugianesi E, Pajvani U, Targher G. Nonalcoholic fatty liver disease: cause or consequence of type 2 diabetes? *Liver Int*. 2016;36:1563-1579.
355. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2010;363(14):1341-1350.
356. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*. 2006;44:865-873.
357. Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008;49:608-612.
358. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol*. 2015;62:1148-1155.
359. Loria P, Lonardo A, Anania F. Liver and diabetes. A vicious circle. *Hepatol Res*. 2013;43:51-64.
360. Yang KC, Hung H-F, Lu C-W, Chang H-H, Lee L-T, Huang K-C. Association of Non-alcoholic Fatty Liver Disease with Metabolic Syndrome Independently of Central Obesity and Insulin Resistance. *Sci Rep*. 2016;6:27034.

361. Calzadilla L, Adams L. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver. *Int J Mol Sci.* 2016;17:774.
362. Byrne CD, Targher G. NAFLD: A multisystem disease. *J Hepatol.* 2015;62:S47-64.
363. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2002;123:745-750.
364. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ, et al. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: A prospective study. *J Hepatol.* 2009;51:1061-1067.
365. Kahl S, Straßburger K, Nowotny B, Livingstone R, Klüppelholz B, Keßel K, et al. Comparison of liver fat indices for the diagnosis of hepatic steatosis and insulin resistance. *PLoS One.* 2014;9:e94059.
366. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol.* 2021;75:659-689.
367. Forlani G, Giorda C, Manti R, Mazzella N, De Cosmo S, Rossi MC, et al. The Burden of NAFLD and Its Characteristics in a Nationwide Population with Type 2 Diabetes. *J Diabetes Res.* 2016;2016:2931985.
368. Saponaro C, Gaggini M, Gastaldelli A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Type 2 Diabetes: Common Pathophysiologic Mechanisms. *Curr Diab Rep.* 2015;15:34.
369. Williams KH, Shackel NA, Gorrell MD, McLennan S V., Twigg SM. Diabetes and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Pathogenic Duo. *Endocr Rev.* 2013;34:84-129.
370. Adams LA, Waters OR, Knuihan MW, Elliott RR, Olynyk JK. NAFLD as a risk factor for the development of diabetes and the metabolic syndrome: an eleven-year follow-up study. *Am J Gastroenterol.* 2009;104:861-867.
371. Berkowitz SA, Krumme AA, Avorn J, Brennan T, Matlin OS, Spettell CM, et al. Initial choice of oral glucose-lowering medication for diabetes mellitus: a patient-centered comparative effectiveness study. *JAMA Intern Med.* 2014;174:1955-1962.
372. Bril F, Cusi K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The New Complication of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2016;45:765-781.
373. Targher G, Bertolini L, Chonchol M, Rodella S, Zoppini G, Lippi G, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia.* 2010;53:1341-1348.
374. Caballería LI, Saló J, Berzigotti A, Planas R, Vila C, Huertas C, et al. Hígado graso no alcohólico. Documento de posicionamiento de la Societat Catalana de Digestologia. *Gastroenterol Hepatol.* 2014;37(6):372-383.
375. Rodríguez-Tajes S, Domínguez Á, Carrión JA, Buti M, Quer JC, Morillas RM, et al. Significant decrease in the prevalence of hepatitis C infection after the introduction of direct acting antivirals. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020;35(9):1570-1578.
376. Ruhl CE, Everhart JE. Elevated serum alanine aminotransferase and gamma-glutamyltransferase and mortality in the United States population. *Gastroenterology.* 2009;136:477-485.
377. Lee TH, Kim WR, Benson JT, Therneau TM, Melton LJ. Serum aminotransferase activity and mortality risk in a United States community. *Hepatology.* 2008;47:880-887.

378. Portillo-Sanchez P, Bril F, Maximos M, Lomonaco R, Biernacki D, Orsak B, et al. High Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Normal Plasma Aminotransferase Levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:2231-2238.
379. Prati D, Taioli E, Zanella A, Della Torre E, Butelli S, Del Vecchio E, et al. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med.* 2002;137:1-10.
380. Population on 1 January by age and sex (demo\_pjan). Eurostat. Available from: <http://ec.europa.eu/eurostat/web/populationdemography-migration-projections/population-data/database>. Accessed: May 22, 2017.
381. Boursier J, Vergniol J, Guillet A, Hiriart JB, Lannes A, Le Bail B, et al. Diagnostic accuracy and prognostic significance of blood fibrosis tests and liver stiffness measurement by FibroScan in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016;65:570-578.
382. Newsome PN, Cramb R, Davison SM, Dillon JF, Foulerton M, Godfrey EM, et al. Guidelines on the management of abnormal liver blood tests. *GUT.* 2018; 67(1):6-19.
383. Harman DJ, Ryder SD, James MW, Wilkes EA, Card TR, Aithal GP, Guha IN. Obesity and type-2 diabetes are important risk factors underlying previously undiagnosed cirrhosis in general practice: a cross-sectional study using transient elastography. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018;47(4):504-515.
384. Poynard T. First-line assessment of patients with chronic liver disease with non-invasive techniques and without recourse to liver biopsy. *J Hepatol.* 2011;54(3):586-587.
385. Imbert Bismut F, Messous D, Thibault V, Myers RB, Piton A, Thabut D, 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(3):323-333.
386. Cales P, Boursier J, de Lédinghen V, Halfon P, Bacq Y, Leroy V, et al. Evaluation and improvement of a reliable diagnosis of cirrhosis by blood tests. *Gastroenterol Clin Biol.* 2008;32(12):1050-1060.
387. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med.* 2011;43(8):617-649.
388. Wong VW, Wong GL, Chim AM, Tse M, Tsang SW, Hui AY, et al. Validation of the NAFLD fibrosis score in a Chinese population with low prevalence of advanced fibrosis. *Am J Gastroenterol.* 2008;103(7):1682-1683.
389. Angulo P, Bugianesi E, Bjornsson ES, Charatcharoenwithaya P, Mills PR, Barrera F, et al. Simple noninvasive systems predict long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2013;145(4):782-789.
390. Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH. AASLD Guidelines for Treatment of Chronic Hepatitis B. *Hepatology.* 2016;63(1):261-283.
391. Wong VW, Hui AY, Tsang SW, Chan JL, Wong GL, Chan AW, et al. Prevalence of undiagnosed diabetes and postchallenge hyperglycaemia in Chinese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 24(8):1215-1222.
392. Dulai PS, Singh S, Patel J, Soni M, Prokop LJ, Younossi Z et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology.* 2017;65(5):1557-1565.
393. Yip TC, Wong VW. How to identify patients with advanced liver disease in the Community? *Hepatology.* 2017;66(1):7-9.

394. Treeprasertsuk S, Björnsson E, Enders F, Suwanwalaikorn S, Lindor KD. NAFLD fibrosis score: A prognostic predictor for mortality and liver complications among NAFLD patients. *World J Gastroenterol.* 2013;19(8):1219-1229.
395. Unalp-Arida A, Ruhl CE. Liver fibrosis scores predict liver disease mortality in the United States population. *Hepatology.* 2017;66(1):84-95.
396. Lim JK, Flamm SL, Singh S, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute Guideline on the Role of Elastography in the Evaluation of Liver Fibrosis. *Gastroenterology.* 2017;152(6):1536-1543.
397. Wong VW, Chan RS, Wong GL, et al. Community-based lifestyle modification programme for non-alcoholic fatty liver disease. A randomized controlled trial. *J Hepatol.* 2013;59:536-542.
398. Fabrellas N, Carol M, Torradella F, et al. Nursing care of patient with chronic liver disease. A time for action. *J Adv Nursing.* 2017;74:498-500.
399. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J, et al. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. *Gastroenterology.* 2015;149(2):379-388.
400. Houghton D, Thoma C, Hallsworth K, Cassidy S, Hardy T, Burt AD, et al. Exercise Reduces Liver Lipids and Visceral Adiposity in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis in a Randomized Controlled Trial. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017 ;15(1):96-102.
401. Chalmers, J.; Wilkes, E.; Harris, R.; Kent, L.; Kinra, S.; Aithal, GP.; et al. The development and implementation of a commissioned pathway for the identification and stratification of liver disease in the community. *Frontline Gastroenterol.* 2020;11:86-92.
402. The scarred liver project: a new diagnostic pathway to detect chronic liver disease across primary and secondary care | NICE n.d. <https://www.nice.org.uk/sharedlearning/the-scarred-liver-project> (accessed January 21, 2020).
403. (<https://www.lebervorsorge.de/seal/>).
404. Chan, WK.; Treeprasertsuk, S.; Goh, GB.; Fan, JG.; Song, MJ.; Charatchoenwiththaya, P. et al. Optimizing use of Nonalcoholic fatty liver disease Fibrosis score, Fibrosis-4 score, and liver stiffness measurement to identify patients with advanced fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019;17:2570-2580.
405. Srivastava, A.; Gailer, R.; Tanwar, S.; Trembling, P.; Parkes, J.; Rodger, A.; et al. Prospective evaluation of a primary care referral pathway for patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2019;71:371-378.
406. Crossan C, Majumdar A, Srivastava A, Thorburn D, Rosenberg W, Pinzani M, et al. Referral pathways for patients with NAFLD based on non-invasive fibrosis tests: Diagnostic accuracy and costs analysis. *Liver Int* 2019;39:2052-2060.
407. Budd J, Cusi K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: What Does the Primary Care Physician Need to Know? *Am J Med.* 2020;133(5):536-543.
408. Chang Y, Cho YK, Kim Y, Sung E, Ahn J, Jung HS, et al. Nonheavy Drinking and Worsening of Noninvasive Fibrosis Markers in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Cohort Study. *Hepatology.* 2019;69:64-75.
409. Patel K, Sebastiani G. Limitations of non-invasive tests for assessment of liver fibrosis. *JHEP Reports.* 2020;2:100067.



410. Bril F, McPhaul MJ, Caulfield MP, Clark VC, Soldevilla-Pico C, Firpi-Morell RJ, et al. Performance of plasma biomarkers and diagnostic panels for nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in patients with type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2020;43(2):290-297.
411. Li B, Zhang C, Zhan YT. Nonalcoholic fatty liver disease cirrhosis: a review of its epidemiology, risk factors, clinical presentation, diagnosis, management, and prognosis. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2018;2018:2784537.
412. Cheah MCC, McCullough AJ, Bon-Bee Goh G. Current modalities of fibrosis assessment in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2017;5(3):261-271.
413. Tilg H. How to approach a patient with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2017;153:345-349.
414. Anstee QA, Lawitz EJ, Alkhoury N, Wong V, Romero-Gomez M, Okanoue T, et al. Noninvasive tests accurately identify advanced fibrosis due to NASH: baseline data from the STELLAR trials. *Hepatology*. 2019;70(5):1521-1530.
415. Grgurevic I, Podrug K, Mikolasevic I, Kukla M, Madir A, Tsochatzis E. Natural history of nonalcoholic fatty liver disease: implications for clinical practice and a individualized approach. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2020;9181368.
416. Caballeria LI, Augustin S, Broquetes T, Morillas RM, Vergara M, Virolés S, et al. Recomendaciones para la detección, diagnóstico y seguimiento de los pacientes con enfermedad por hígado graso no alcohólico en atención primaria y hospitalària. *Med Clin (Barc)*. 2019;153(4):169-177.
417. National Institute for Health and Care Excellence. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): assessment and management. London: National Institute for Health and Care Excellence, 2016.
418. Nobili V, Parkes J, Bottazzo G, Marcellini M, Cross R, Newman D, et al. Performance of ELF serum markers in predicting fibrosis stage in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2009;136:160-167.
419. Tapper EB, Sengupta N, Hunink MG, Afdhal NH, Lai M. Cost-effective evaluation of nonalcoholic fatty liver disease with NAFLD fibrosis score and vibration controlled transient elastography. *Am J Gastroenterol*. 2015;110:1298-1304.
420. Hagström H, Talbäck M, Andreasson A, Walldius G, Hammar M. Ability of non-invasive scoring systems to identify individuals in the population at risk for severe liver disease. *Gastroenterology*. 2020;158:200-214.
421. The scarred liver project: a new diagnostic pathway to detect chronic liver disease across primary and secondary care | NICE n.d. <https://www.nice.org.uk/sharedlearning/the-scarred-liver-project> (accessed January 21, 2020).
422. Chalmers, J.; Wilkes, E.; Harris, R.; Kent, L.; Kinra, S.; Aithal, GP.; et al. The development and implementation of a commissioned pathway for the identification and stratification of liver disease in the community. *Frontline Gastroenterol*. 2020;11:86-92.
423. Carvalhana S, Leitão J, Alves AC, Bourbon M, Cortez-Pinto H. How good is controlled attenuation parameter and fatty liver index for assessing liver steatosis in general population: correlation with ultrasound. *Liver Int*. 2014;34(6):111-117.
424. Stern C, Castera L. Non-invasive diagnosis of hepatic steatosis. *Hepatol Int*. 2017;11:70-78.

425. Poynard T, Lassailly G, Diaz E, Clement K, Caiazzo R, Tordjman J, et al. Performance of biomarkers FibroTest, ActiTest, SteatoTest, and NashTest in patients with severe obesity: meta analysis of individual patient data. *PLoS One*. 2012;7:e30325.
426. Fedchuk L, Nascimbeni F, Pais R, Charlotte F, Housset C, Ratziu V, LIDO Study Group. Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40:1209-1222.
427. Cuthbertson DJ, Weickert MO, Lythgoe D, Sprung VS, Dobson R, Shoajee-Moradie F, et al. External validation of the fatty liver index and lipid accumulation product indices, using 1H-magnetic resonance spectroscopy, to identify hepatic steatosis in healthy controls and obese, insulin-resistant individuals. *Eur J Endocrinol*. 2014;171:561-569.
428. Calori G, Lattuada G, Ragogna F, Garancini MP, Crosignani P, Villa M, et al. Fatty liver index and mortality: the Cremona study in the 15th year of follow-up. *Hepatology*. 2011;54:145-152.
429. Paige JS, Bernstein GS, Heba E, Costa E, Fereirra M, Wolfson T, et al. A Pilot comparative study of quantitative ultrasound, conventional ultrasound, and MRI for predicting histology-determined steatosis grade in adult nonalcoholic fatty liver disease. *AJR Am J Roentgenol*. 2017;208:168-177.
430. Graupera I, Thiele M, Serra-Burriel M, Caballeria LI, Roulot D, Wong GLH, et al. Low accuracy of FIB-4 and NAFLD fibrosis Scores for screening for liver fibrosis in the population. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2022;
431. Rowe IA. Too much medicine: overdiagnosis and overtreatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3:66-72.
432. Shiha G, Ibrahim A, Helmy A, Sarin SK, Omata M, Kumar A, et al. Asian-Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) consensus guidelines on invasive and non-invasive assessment of hepatic fibrosis: a 2016 update. *Hepatol Int*. 2017;11(1):1-30.
433. Corey KE, Klebanoff MJ, Tramontano AC, Chung RT, Hur C. Screening for nonalcoholic steatohepatitis in individuals with type 2 diabetes: a cost-effectiveness analysis. *Dig Dis Sci*. 2016;61: 2108-2117.
434. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology*. 2003; 37:1286-1292.
435. Eslam M, Newsome P, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol*. 2020;73:202-209.
436. Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, Fang Y, Younossi Y, Mir H, Srishord M. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011;9(6):524-530.
437. GBD 2017 Cirrhosis Collaborators. The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:245-266.
438. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol*. 2019; 70:151-171.
439. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, et al. Sun Y, Xuan Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology*. 2011;53(3):726-736.

440. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatcharoenwitthaya P, et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2015;149:389-397.
441. Ekstedt M, Hagstrom H, Nasr P, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61:1547-1554.
442. Hagström H, Talbäck M, Andreasson A, Walldius G, Hammar M. Ability of non-invasive scoring systems to identify individuals in the population at risk for severe liver disease. *Gastroenterology*. 2020;158:200-214.
443. Petta S, Wong VW, Cammà C, Hiriart JB, Wong GLH, Vergniol J, et al. Serial combination of non-invasive tools improves the diagnostic accuracy of severe liver fibrosis in patients with NAFLD. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;46(6):617-627.
444. Haymart MR, Miller DC, Hawley ST. Active Surveillance for Low-Risk Cancers - A Viable Solution to Overtreatment? *N. Engl. J. Med*. 2017;377:203-206.
445. Johansson M, Jørgensen K J, Brodersen J. The benefits of screening--and its harms. *Lancet* 2016;88:563-564.
446. Schwimmer JB, Behling C, Angeles JE, Paiz M, Durelle J, Africa J, et al. Magnetic resonance elastography measured shear stiffness as a biomarker of fibrosis in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2017;66(5):1474-1485.
447. Park CC, Nguyen P, Hernandez C, Bettencourt R, Ramirez K, Fortney L, et al. Magnetic resonance elastography vs transient elastography in detection of fibrosis and noninvasive measurement of steatosis in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2017;152(3):598-607.
448. Kim D, Kim WR, Kim HJ, Therneau TM. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States. *Hepatology*. 2013;57(4):1357-1365.
449. Salomone F, Micek A, Godos J. simple scores of fibrosis and mortality in patients with NAFLD: a systematic review with meta-analysis. *J Clin Med*. 2018;7(8):219.
450. Chalasani N, Abdelmalek MF, Loomba R, Kowdley KV, McCullough AJ, Dasarathy S, et al. Relationship between three commonly used non-invasive fibrosis biomarkers and improvement in fibrosis stage in patients with NASH. *Liver Int*. 2019;39(5):924-932.
451. Iruzubieta P, Medina JM, Fernández-López R, Crespo J, de la Cruz F. A Role for Gut Microbiome Fermentative Pathways in Fatty Liver Disease Progression. *J Clin Med*. 2020;9(5):1369.
452. Thiele M, Madsen BS, Hansen JF, Detlefsen S, Antonsen S, Krag A. Accuracy of the Enhanced Liver Fibrosis Test vs FibroTest, Elastography, and Indirect Markers in Detection of Advanced Fibrosis in Patients With Alcoholic Liver Disease. *Gastroenterology*. 2018;154:1369-1379.
453. Zelber-Sagi S, Ratzu V, Zvibel I, Goldiner I, Blendis L, Morali, G, et al. The association between adipocytokines and biomarkers for nonalcoholic fatty liver disease-induced liver injury: A study in the general population. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2012;24:262-269.
454. Petta S, Di Marco V, Pipitone RM, Grimaudo S, Buscemi C, Craxi A, et al. Prevalence and severity of nonalcoholic fatty liver disease by transient elastography: Genetic and metabolic risk factors in a general population. *Liver Int*. 2018;38:2060-2068.

455. Abeysekera KWM, Fernandes GS, Hammerton G, Portal AJ, Gordon FH, Heron J, et al. Prevalence of steatosis and fibrosis in young adults in the UK: a population-based study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:295-305.
456. Sporea I, Mare R, Lupuşoru R, Sima A, Sirlu R, Popescu A, Timar R. Liver Stiffness Evaluation by Transient Elastography in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Ultrasound-proven Steatosis. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2016;25:167-174.
457. Younossi ZM, Stepanova M, Younossi Y, Golabi P, Mishra A, Rafiq N, Henry L. Epidemiology of chronic liver diseases in the USA in the past three decades. *Gut*. 2020;69:564-568.
458. Adams LA, Lymp JF, St. Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: A population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129(1):113-121.
459. Le, MH, Devaki P, Ha NB, Jun DW, Te HS, Cheung RC, Nguyen MH. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and risk factors for advanced fibrosis and mortality in the United States. *PLoS One*. 2017;12:e0173499.
460. Rinella, M.; Charlton, M. The globalization of nonalcoholic fatty liver disease: Prevalence and impact on world health. *Hepatology*. 2016;64:19-22.
461. Patel PJ, Connoley D, Rhodes F, Srivastava A, Rosenberg W. A review of the clinical utility of the Enhanced Liver Fibrosis test in multiple aetiologies of chronic liver disease. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2020;57(1):36-43.
462. Usher-Smith JA, Sharp SJ, Griffin SJ. The spectrum effect in tests for risk prediction, screening, and diagnosis. *BMJ*. 2016;353:i3139.
463. McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis inpatients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2010;59:1265-1269.
464. Vilar-Gomez E, Chalasani N. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *J Hepatol*. 2018;68(2):305-315
465. McGovern BH, Ditelberg JS, Taylor LE, Gandhi RT, Christopoulos KA, Chapman S et al. Hepatic steatosis is associated with fibrosis, nucleoside analogue use, and hepatitis C virus genotype 3 infection in HIV-seropositive patients. *Clin Infect Dis*. 2006;43:365-372.
466. Ginès P, Castera L, Lammert F, Graupera I, Serra-Burriel M, Allen AM, et al. Population screening for liver fibrosis: Toward early diagnosis and intervention for chronic liver diseases. *Hepatology*. 2022;75(1):219-228.
467. Ajmera V, Belt P, Wilson LA, Gill RM, Loomba R, Kleiner DE, et al. Among Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Modest Alcohol Use Is Associated With Less Improvement in Histologic Steatosis and Steatohepatitis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2018;16(9):1511-1520.
468. Ajmera V, Terrault NA, Harrison SA. Is moderate alcohol use in nonalcoholic fatty liver disease good or bad? A critical review. *Hepatology*. 2017;65:2090-2099.
469. Boyle M, Masson S, Anstee QM. The bidirectional impacts of alcohol consumption and the metabolic syndrome: Cofactors for progressive fatty liver disease. *J Hepatol*. 2018;68:251-267.
470. Lackner C, Tiniakos D. Fibrosis and alcohol-related liver disease. *J Hepatol*. 2019;70:294-304.
471. Jou J, Choi SS, Diehl AM. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin. Liver Dis*. 2008;28:370-379.

472. Tamura S, Shimomura I. Contribution of adipose tissue and de novo lipogenesis to nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2005;115:1139-1142.
473. Kang L, Sebastian BM, Pritchard MT, Pratt BT, Previs SF, Nagy LE. Chronic ethanol-induced insulin resistance is associated with macrophage infiltration into adipose tissue and altered expression of adipocytokines. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2007;31:1581-1588.
474. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouari R, Baker RD, Gill SR. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: A connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013;57:601-609.
475. Kakiyama G, Hylemon PB, Zhou H, Pandak WM, Heuman DM, Kang DJ, et al. Colonic inflammation and secondary bile acids in alcoholic cirrhosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014;306(11):929-937.
476. Ferslew BC, Xie G, Johnston CK, Su M, Stewart PW, Jia W, et al. Altered Bile Acid Metabolome in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Dig Dis Sci*. 2015;60(11):3318-3328.
477. Puigvehí M, Broquetes T, Coll S, Garcia-Retortillo M, Cañete N, Fernández R, et al. Impact of anthropometric features on the applicability and accuracy of FibroScan® (M and XL) in overweight/obese patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017;32(10):1746-1753.
478. Myers RP, Pomier-Layrargues G, Kirsch R, Pollett A, Duarte-Rojo A, Wong D, et al. Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients. *Hepatology*. 2012;55(1):199-208.
479. Attia D, Bantel H, Lenzen H, Manns MP, Gebel MJ, Potthoff A. Liver stiffness measurement using acoustic radiation force impulse elastography in overweight and obese patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;44(4):366-379.
480. Marcellin P, Gane E, Buti M, Afdhal N, Sievert W, Jacobson IM, et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study. *Lancet*. 2013;381:468-475.
481. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002;122:1303-1313.
482. Wong VW-S, Adams LA, de Lédinghen V, Wong GL-H, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH – current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15:461-478.
483. Kim JJ, Leung GM, Woo PPS, Goldie SJ. Cost-effectiveness of organized versus opportunistic cervical cytology screening in Hong Kong. *J Public Health*. 2004;26:130-137.
484. Black WC, Gareen IF, Soneji SS, Sicks JD, Keeler EB, Aberle DR, et al. Costeffectiveness of CT screening in the national lung screening trial. *N Engl J Med*. 2014;371:1793-1802.
485. Gorin SS, Gauthier J, Hay J, Miles A, Wardle J. Cancer screening and aging: research barriers and opportunities. *Cancer*. 2008;113:3493-3504.
486. Brouwers MC, De Vito C, Bahirathan L, Carol A, Carroll JC, Cotterchio M, et al. What implementation interventions increase cancer screening rates? A systematic review. *Implement Sci*. 2011;6:111.
487. Carter-Harris L, Gould MK. Multilevel barriers to the successful implementation of lung cancer screening: why does it have to be so hard?. *Ann Am Thorac Soc*. 2017;14:1261-1265.

488. Minniear TD, Gilmore B, Arnold SR, Flynn PM, Knapp KM, Gaur AH. Implementation of and barriers to routine HIV screening for adolescents. *Pediatrics*. 2009;124:1076-1084.
489. Miller AB. Implementation of colon cancer screening: techniques, costs, and barriers. *Gastroenterol Clin North Am*. 2008;37:83-95.
490. Kuo MJ, Chen HH, Chen CL, Fann JCY, Chen SLS, Chiu SYH, et al. Costeffectiveness analysis of population-based screening of hepatocellular carcinoma: Comparing ultrasonography with two-stage screening. *World J Gastroenterol*. 2016;22:3460-3470.



## **ANNEXES**





## Interaction between metabolic syndrome and alcohol consumption, risk factors of liver fibrosis: A population-based study

Elisa Pose<sup>1,2,3,4</sup> | Guillem Pera<sup>3,5</sup> | Pere Torán<sup>3,5</sup> | Jordi Gratacós-Ginès<sup>1</sup> |  
Emma Avitabile<sup>1,2</sup> | Carmen Expósito<sup>5</sup> | Alba Díaz<sup>6</sup> | Isabel Graupera<sup>1,2,3,4</sup> |  
Ana B. Rubio<sup>1,2</sup> | Pere Ginès<sup>1,2,3,4</sup>  | Núria Fabrellas<sup>2,3,4</sup> | Llorenç Caballeria<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>Liver Unit, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Institut d'Investigacions Biomèdiques, August Pi i Sunyer, Barcelona, Spain

<sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Barcelona, Spain

<sup>4</sup>Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>5</sup>Fundació Institut Universitari per a la Recerca en Atenció Primària de Salut Jordi Gol i Gurina (IDIAP J Gol), Barcelona, Spain

<sup>6</sup>Pathological Department, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

### Correspondence

Pere Ginès, Liver Unit, Hospital Clínic, Barcelona, Villarroel 170, Barcelona 08036, Spain.  
Email: pginès@clinic.cat

### Funding information

The work described has been funded by Fondo de Investigación de Salud FIS PI18/01330 and PI18/00662 funded by Instituto de Salud Carlos III - Spanish Ministry of the Economy, Industry and Competitiveness and by the European Regional Development Fund (ERDF); Agència de gestió d'ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR) – 2017- SGR –01281.

Editor: Michelle Long

### Abstract

**Background and aims:** Alcohol and metabolic syndrome (MS) coexist frequently as cofactors of liver disease. Previous studies suggest a deleterious effect of MS in advanced alcohol-related liver disease (ArLD). However, it is unknown whether MS can increase the risk of liver fibrosis in early stages of ArLD. The aim of this study was to investigate the effect of MS on liver fibrosis in subjects with alcohol consumption from a population-based cohort.

**Methods:** The number of subjects include 1760 (58%) of 3014 who were randomly selected from the community consumed alcohol and were classified as current drinkers, divided in moderate ( $n = 1222$ ) or high-risk drinkers ( $n = 275$ ) ( $>21$  units/week men,  $>14$  units/week women for high-risk drinkers), or former drinkers ( $n = 263$ ). Liver fibrosis was estimated by measuring liver stiffness (LS) with transient elastography (TE).

**Results:** Prevalence of significant LS using cutoff values of TE of 8 and 9.1 kPa was increased in high-risk compared with moderate or former drinkers and lifetime abstainers. In subjects with alcohol consumption, LS was associated with male gender, AST, ALT, years of consumption, and MS. In high-risk drinkers, MS and intensity of consumption were the only factors associated with significant LS (OR 3.7 and 4.6 for  $LS \geq 8$  kPa and 3.9 and 9.2 kPa for  $LS \geq 9.1$  kPa, respectively). Presence of significant liver fibrosis in the liver biopsy was higher among high-risk as compared with moderate or former drinkers.

**Conclusion:** MS increases the risk of liver fibrosis in subjects with alcohol consumption. Among high-risk drinkers, only MS and consumption of high amount of alcohol are associated with risk of liver fibrosis.

### KEYWORDS

alcohol, alcohol-related liver disease, liver fibrosis, metabolic syndrome, population-based cohort, transient elastography

Elisa Pose and Guillem Pera share first authorship.

Pere Ginès, Núria Fabrellas, and Llorenç Caballeria are Co-PIs.

© 2021 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

### Key Points

- Metabolic syndrome increases the risk of liver fibrosis in subjects with alcohol consumption.
- Prevalence of significant liver fibrosis assessed by transient elastography is increased among high-risk drinkers compared to moderate or former drinkers and lifetime abstainers.
- Among high-risk drinkers, metabolic syndrome and intensity of alcohol consumption are the only factors associated with significant liver fibrosis.

## 1 | INTRODUCTION

Alcohol-related liver disease (ArLD) and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) are among the most common causes of chronic liver disease, cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and liver-related deaths worldwide.<sup>1-3</sup> The prevalence of ArLD in the general population varies depending on the area and is very high in many areas of the world, including the US and Europe.<sup>4</sup>

NAFLD is already a major health problem.<sup>5,6</sup> Fatty liver disease is associated with metabolic comorbidities, particularly obesity, type 2 diabetes, hyperlipidemia, and MS, the frequency of which are increasing rapidly worldwide. In this context, NAFLD prevalence and burden is expected to increase in the following years.<sup>2,7</sup>

A relevant aspect of the pathogenesis of liver diseases is that, frequently, two different risk factors for liver injury coexist in the same subject, potentially increasing the risk and severity of liver damage. In this regard, previous studies have reported an accelerated progression of liver disease in patients with viral hepatitis (particularly HCV) and concomitant alcohol intake.<sup>8,9</sup>

As mentioned before, alcohol consumption and MS are risk factors of chronic liver diseases that are very common and may therefore coexist in some subjects. Hence, a number of investigations have analyzed the potential interaction between the two risk factors and development of chronic liver disease. The approaches taken in these investigations have been either to evaluate the effect of alcohol consumption in cohorts of patients with hepatic steatosis caused by NAFLD or the effect of MS in cohorts of patients with advanced ArLD, particularly alcoholic hepatitis or cirrhosis.<sup>10-15</sup> However, there is very little information on the potential effect of MS as a cofactor for liver disease at the population level in cohorts of subjects categorized according to different levels of alcohol consumption.<sup>16,17</sup> This approach has the advantage over the two previous approaches of being able to unravel the effect of MS in early stages of ArLD before alcoholic hepatitis or cirrhosis develops.

Therefore, the current study was designed to answer the question as to whether the risk of chronic liver disease in patients with alcohol consumption is increased by the coexistence of MS. To this aim, we analyzed a cohort of subjects without known liver disease who was randomly selected from the population. Liver fibrosis was assessed in all subjects by transient elastography (TE) followed by liver biopsy in selected subjects. The role of MS was evaluated in subjects categorized according to their past or current history of alcohol consumption.

## 2 | METHODS

### 2.1 | Study design and participants

This was a cross-sectional study of subjects who were randomly selected from the general population without known liver disease, in whom the presence of liver fibrosis was assessed by measuring liver stiffness (LS) using TE, a widely accepted method for the non-invasive evaluation of liver fibrosis.<sup>18-20</sup> The core results of this study have been reported elsewhere.<sup>21</sup> The current study was aimed at specifically evaluating the effects of MS on the risk of liver fibrosis in subjects with alcohol consumption.

The study was conducted in several municipalities in the north of the Barcelona metropolitan area between April 2012 and January 2016. Participants in the study were identified randomly from a total of 162,950 subjects aged 18-75 years from the registries of the primary health care centers of the municipalities included in the study. Randomly identified subjects were contacted by telephone and invited to participate.

Exclusion criteria were as follows: (a) patients with a current history of liver disease, including cholestasis, (b) active malignancy, (c) severe extrahepatic diseases (congestive heart failure New York Heart Association >2, chronic obstructive pulmonary disease Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease >2, chronic kidney disease requiring dialysis, previous organ transplantation, and severe neurologic diseases), and (d) admission to long-term nursing homes.

All participants were seen by an experienced nurse or general practitioner who were trained for the objectives of the study. After the informed consent was signed, the following steps were taken in the study visit: (a) a detailed medical history, anthropometric measurements were performed; (b) information about alcohol consumption was collected (see later); (c) blood tests, including liver biochemistry, glycemia, glycosylated hemoglobin, lipid profile, and serum ferritin were done; (d) a TE with measurement of LS was performed (see later).

### 2.2 | Definitions

Alcohol consumption was self-reported by direct interview to the subjects included in the study. The questions on alcohol consumption asked how many nips of spirits, beers, and cups/ bottles of wine were usually consumed each week. Responses were converted to standard drinks (considering that one standard drink of alcohol in

Spain is equal to 10 g ethanol).<sup>22</sup> Information about current as well as previous alcohol consumption was collected. Subjects were then classified into three groups: 1) no-drinkers or lifetime alcohol abstainers, 2) former drinkers (subjects with previous history of alcohol use but absolutely no current alcohol consumption), and 3) current drinkers: subjects with alcohol consumption of at least one drink per week at time of recruitment into the study; this latter group was further categorized into two subgroups: "moderate drinkers", if alcohol consumption was of  $\leq 21$  drinks/week in men and  $\leq 14$  drinks/week in women, and "high-risk drinkers" if alcohol consumption was higher than those values, considering the previously published standard definitions.<sup>22</sup> In subjects with current alcohol consumption, information about the duration of consumption was also collected.

MS was defined according to the International Diabetes Federation criteria as follows: central obesity defined by ethnicity specific criteria (waist circumference  $\geq 94$  cm in males and  $\geq 80$  cm in females for Europeans,  $\geq 90$  cm in males and  $\geq 80$  cm in females for South Asians, etc) plus at least two of the following, (a) arterial hypertension ( $\geq 130$  mm Hg or  $\geq 85$  mm Hg or previous treatment for arterial hypertension), (b) basal glycemia  $\geq 100$  mg/dL or previous diagnosis of type 2 diabetes, (c) high-density lipoprotein cholesterol  $< 50$  mg/dL in women and  $< 40$  mg/dL in men, (d) and triglyceride level  $\geq 150$  mg/dL or specific treatment for this lipid abnormality.<sup>23</sup>

FLI (Fatty Liver Index) was used to classify subjects based on the presence of liver steatosis.<sup>24</sup> A FLI value  $\geq 60$  is highly suggestive of liver steatosis.<sup>24</sup> Fibrosis-4 (FIB-4) and NFS (NAFLD Fibrosis Score) were used to classify subjects based on the risk of liver fibrosis, as previously defined.<sup>25-27</sup>

### 2.3 | Procedures

TE was performed using the Fibroscan system (Echosens, Paris, France), as described elsewhere.<sup>21</sup> This method estimates the LS, which is known to have a good correlation with the severity of liver fibrosis.<sup>28</sup> Measurements were performed on the right lobe of the liver after a minimum of a 6-hours fast. All procedures were performed by trained nurses with the same machine using the M probe, the only probe available at the time of study.

Liver biopsy was proposed to all the subjects with TE values  $\geq 8$  kPa. Liver biopsies were performed percutaneously with the Tru-Cut biopsy needle using a standard procedure. Liver histology was assessed by a liver pathologist who was not aware of the results of LS measurement and was graded from F0 to F4.<sup>29</sup>

Standard demographic and physical examination data and laboratory values were collected at the time of inclusion in the study.

### 2.4 | Statistical analysis

The main outcome variable was the prevalence of liver fibrosis, as assessed by increased LS values, as defined by a LS value  $\geq 8$  kPa, which was the cut-off value defined in the protocol at the time this

study was designed. However, considering the current evidence on the optimal cut-off for liver fibrosis in the general population and in subjects with alcohol risk consumption we have also performed the analyses with the LS  $\geq 9.1$  kPa cut-off value.<sup>30,31</sup> Descriptive analysis used frequencies and percentages (categorical variables), means and SD (symmetric distributed continuous variables), and median and interquartile range (skewed continuous variables). Bivariate comparisons of high/low LS (using the mentioned cut-off values) with potential explanatory variables was performed using chi-squared tests (percentages, using the exact version when appropriate), t tests (means), and Mann-Whitney tests (medians). In the case of comparisons of more than two means, analysis of variance (or Wilcoxon test for medians) was used. Multivariate logistic regression was used to assess the relationship between high/low LS (dependent variable) and mutually adjusted risk factors (plus age). Only variables with a  $P < .05$  were included in the models.

## 3 | RESULTS

### 3.1 | Characteristics of the study population

Out of the 3014 subjects included, 2980 had information about alcohol consumption available. Of those, 1760 (58.4%) had had alcohol consumption at any point in time according to the definitions used. Of the 1760 subjects, 263 were former drinkers whereas 1497 were current drinkers at the time of the study. Among the current drinkers, 1222 were classified as moderate drinkers and 275 high-risk drinkers (40.5% and 9.1% of the overall population, respectively). Baseline characteristics of the subjects classified according to alcohol consumption are given in Table 1.

Patients with high-risk alcohol consumption were older and more frequently males. Duration of alcohol consumption was longer in high-risk compared with the other groups. Prevalence of MS, type 2 diabetes, obesity, total cholesterol, triglycerides, transaminases, GGT, and ferritin values were higher in the group of high-risk drinkers. Conversely, prevalence of abdominal obesity was higher in lifetime abstainers. No significant differences were found in other cardiovascular risk factors such as arterial hypertension or diabetes, although there was a trend for higher prevalence in high-risk drinkers; prevalence of MS was higher among high-risk drinkers. Finally, the frequency of FLI  $\geq 60$  was greater in high-risk drinkers, suggesting a higher prevalence of hepatic steatosis in this group of subjects.

### 3.2 | Liver stiffness, serum fibrosis scores, and liver histology

Mean LS was higher in the group of high-risk drinkers compared with that in the other groups (Table 2). Moreover, 10% of high-risk drinkers had LS  $\geq 8$  kPa, compared with lower frequencies (5%-6%) in the other groups, suggesting an increased prevalence of significant liver fibrosis among high-risk drinkers. When a cut-off of LS  $\geq 9.1$  kPa



**TABLE 1** Baseline characteristics of the study population classified in four groups according to alcohol consumption: 1) lifetime abstainers, 2) former drinkers, 3) current moderate drinkers, and 4) current high risk drinkers

	Lifetime abstainers n = 1220	Former drinkers n = 263	Current drinkers		P
			Moderate n = 1222	High risk n = 275	
Male (n)	245 (20)	143 (54)	678 (55)	213 (77)	0.000
Age (years)	53 (12)	52 (13)	55 (11)	57 (10)	0.000
Current alcohol consumption (drinks/week)	0 (0)	0 (0)	6 (7)	29 (14)	0.000
Duration of alcohol consumption (years)	0 (0)	10 (20)	30 (25)	35 (17)	0.000
Metabolic syndrome <sup>a</sup> (n)	357 (31)	82 (32)	376 (31)	111 (41)	0.009
Obesity <sup>b</sup> (n)	396 (33)	82 (31)	347 (28)	98 (36)	0.034
Abdominal obesity <sup>c</sup> (n)	672 (56)	122 (46)	550 (45)	126 (46)	0.000
Arterial Hypertension (n)	299 (25)	71 (27)	321 (26)	88 (32)	0.083
Type 2 Diabetes (n)	111 (9)	33 (13)	127 (10)	32 (12)	0.275
Glucose (mg/dL)	99 (25)	101 (29)	101 (26)	104 (26)	0.010
Total cholesterol (mg/dL)	213 (38)	201 (38)	213 (40)	218 (43)	0.000
LDL cholesterol (mg/dL)	134 (34)	127 (34)	135 (35)	133 (39)	0.013
Triglycerides (mg/dL)	119 (72)	128 (86)	122 (75)	151 (124)	0.000
AST (IU/L)	23 (9)	24 (9)	24 (9)	26 (11)	0.000
ALT (IU/L)	22 (13)	25 (15)	24 (14)	27 (16)	0.000
GGT (IU/L)	20 (14)	23 (16)	25 (18)	38 (39)	0.000
Ferritin (ng/mL)	60 (83)	82 (107)	98 (133)	135 (163)	0.000
Fatty Liver Index (FLI) <sup>d</sup>					
Mean (SD)	45 (29)	49 (30)	49 (29)	61 (28)	0.000
<30	428 (38)	86 (35)	366 (32)	44 (17)	0.000
30-60	325 (29)	63 (26)	349 (30)	72 (27)	
≥60	371 (33)	98 (40)	437 (38)	146 (56)	

Note: Data are n (%) or mean (SD), except for duration of alcohol consumption, median (IQR). P value was used for an analysis of variance (continuous variables) or chi-squared test (categorical variables). The Wilcoxon test was used when medians are presented.

ALT alanine aminotransferase, ALT aspartate aminotransferase, FLI Fatty Liver Index.

<sup>a</sup>Metabolic syndrome (International Diabetes Federation): Central obesity (waist circumference ≥94 cm in males and ≥80 in females) plus any of two: raised triglycerides (≥150 mg/dL) or specific treatment for this lipid abnormality, reduced HDL-cholesterol (<40mg/dL in male and < 50mg/dL in female) or specific treatment for this lipid abnormality, raised blood pressure (systolic blood pressure ≥130 mm Hg or diastolic blood pressure ≥ 85 mmHg) or treatment of previously diagnosed hypertension, raised fasting plasma glucose (≥100 mg/dL) or previously diagnosed type 2 diabetes.

<sup>b</sup>Obesity: ≥30kg/m<sup>2</sup>.

<sup>c</sup>Abdominal obesity: Waist circumference ≥102 cm in men or ≥88 cm in women.

<sup>d</sup>The Fatty Liver Index estimates the amount of fat in the liver, and is calculated using body mass index, waist circumference, and serum gamma-glutamyltransferase and triglycerides, as previously reported.<sup>24</sup>

was used, a higher prevalence of significant liver fibrosis was found among high-risk drinkers (7%), compared with lower frequencies in the other two groups (2%-3%). Distribution of TE values in the four groups shows a shift to the right in LS values in the group of high-risk drinkers (Figure 1; Table S1). Values of serum fibrosis scores, FIB-4, and NFS, paralleled changes in LS in the four groups (Table 2; Figure S1).

Overall, 47 of the 109 (43%) subjects with alcohol consumption and LS ≥8 kPa had liver biopsy performed. Fibrosis grading in liver histology is shown in Table S2.

### 3.3 | Factors associated with liver fibrosis in subjects with current alcohol consumption. Relationship with metabolic syndrome

We next sought to determine factors associated with liver fibrosis, as assessed by LS ≥ 8kPa, in subjects with alcohol consumption. When all subjects with some type of alcohol consumption were considered together (n = 1760), factors associated with increased LS were male gender, AST or ALT > 40 IU/L, duration of alcohol consumption, and MS (Table 3A).

**TABLE 2** Transient elastography, NAFLD fibrosis score, and FIB-4 values of the study population classified in lifetime abstainers, former drinkers, and moderate and high-risk drinkers

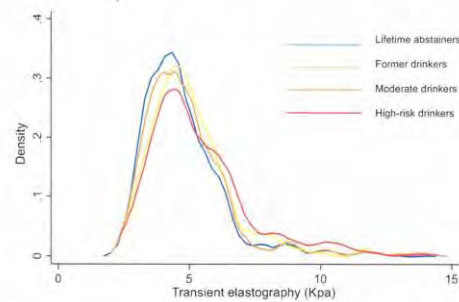
	Lifetime abstainers n = 1220	Former drinkers n = 263	Current drinkers		P
			Moderate n = 1222	High risk n = 275	
NAFLD fibrosis score <sup>a</sup>					
Mean (SD)	-1.9 (1.3)	-1.9 (1.3)	-1.8 (1.2)	-1.7 (1.2)	.003
Low risk	698 (64)	153 (64)	691 (62)	138 (55)	.114
Intermediate risk	373 (34)	82 (34)	400 (36)	107 (42)	
High risk	23 (2)	3 (1)	18 (2)	8 (3)	
FIB-4 <sup>b</sup>					
Mean (SD)	1.1 (0.5)	1.2 (0.5)	1.3 (0.5)	1.4 (0.6)	.000
Low risk	759 (69)	164 (68)	698 (61)	140 (54)	.000
Intermediate risk	333 (30)	75 (31)	415 (37)	108 (42)	
High risk	15 (1)	3 (1)	24 (2)	9 (4)	
TE (kpa)	4.4 (1.7)	4.7 (1.7)	4.6 (1.7)	4.9 (2.1)	.000
TE ≥ 8 kpa	63 (5)	12 (5)	69 (6)	28 (10)	.010

Note: Data are n (%) or mean (SD), except for TE, median (IQR). P value was used for analysis of variance (continuous variables) or chi-squared test (categorical variables). The Wilcoxon test was used when medians are presented.

FIB-4, Fibrosis-4 score.

<sup>a</sup>The NAFLD Fibrosis Score is a serologic test that estimates liver fibrosis and includes age, BMI, diabetes, AST/ALT, platelet count, and albumin.<sup>25</sup>

<sup>b</sup>The FIB-4 is a serologic test that estimates liver fibrosis that includes age, AST/ALT, and platelet count.<sup>27</sup>

**FIGURE 1** Transient elastography values distribution in the four groups of subjects of the whole cohort: lifetime abstainers, former drinkers, current moderate, and current high-risk drinkers

Because liver fibrosis was clearly more prevalent in subjects with current high-risk alcohol consumption compared with the other groups, we then specifically investigated factors related to liver fibrosis in this specific subset of subjects and its potential relationship with MS and its components. As shown in Table S3, high-risk drinkers with significant liver fibrosis had higher prevalence of MS and its components. Besides, transaminases, GGT and ferritin values were higher in this group of subjects. In multivariate analysis, only MS and severe alcohol consumption (defined as >40drinks per week) were independently associated with increased LS (Table 3B). Both variables were interactive, with less MS effect among high risk drinkers. Factors associated with increased LS were also investigated

among ever drinkers and high-risk drinkers using the 9.1 kPa cut-off. Interestingly, the same risk factors for increased LS were found when using the 8.0 kPa and the 9.1 kPa cut-offs, with similar results in the multivariate analysis (Table S4).

The interaction between alcohol and MS was specifically investigated in the group of high-risk drinkers. Interestingly, MS increased markedly the risk of liver fibrosis in subjects with high-risk consumption of less than 40 units/week. By contrast, in subjects with severe alcohol consumption >40 units/week, the presence of MS was not associated with an increased risk of liver fibrosis, using either the LS ≥8 kPa or ≥9.1 kPa cut-offs (Table 4).

## 4 | DISCUSSION

Our study investigated the prevalence of liver fibrosis and the effect of the interaction between alcohol consumption and MS in a group of 1760 subjects with former or current alcohol consumption from a population-based European cohort of 3014 subjects. Findings indicate an increased prevalence of liver fibrosis in current high-risk drinkers as compared not only to current moderate drinkers or lifetime abstainers, but also to former drinkers. Most importantly, presence of MS was an independent predictive factor of liver fibrosis in subjects with alcohol consumption.

To date, most of the studies that investigated the effect of the interaction between alcohol and MS as potential cofactors of liver disease have focused on the effect of moderate alcohol consumption in subjects with NAFLD.<sup>10-13,32</sup> These studies showed discrepant

**TABLE 3** Multivariate analysis of the risk factors associated with liver fibrosis assessed by LS  $\geq$  8 kPa in the overall population of drinkers (A) and in high-risk drinkers (B)

	OR	CI 95%	P
(A) Ever drinkers			
Male	1.66	0.94-2.93	.080
Severe alcohol consumption (>40 drinks/wk)	1.92	0.92-4.00	.081
Duration of consumption <sup>a</sup>	1.54	1.02-2.32	.040
Metabolic Syndrome <sup>b</sup>	3.91	2.41-6.33	.000
AST and/or ALT > 40 IU/L	3.15	2.00-4.96	.000
(B) High-risk drinkers			
Severe alcohol consumption (>40 drinks/wk)	3.7	1.5-9.4	.005
Metabolic Syndrome <sup>b</sup>	4.6	1.7-12.3	.002

Note: Logistic multivariate regression using dichotomized liver stiffness as a dependent variable. All variables mutually adjusted for age and sex. ALT, alanine aminotransferase, AST aspartate aminotransferase.

<sup>a</sup>In logarithm.

<sup>b</sup>Metabolic syndrome (International Diabetes Federation): Central obesity (waist circumference  $\geq$ 94 cm in males and  $\geq$ 80 in females) plus any of two: raised triglycerides ( $\geq$ 150 mg/dL) or specific treatment for this lipid abnormality, reduced HDL-cholesterol (<40 mg/dL in male and <50 mg/dL in female) or specific treatment for this lipid abnormality, raised blood pressure (systolic blood pressure  $\geq$ 130 mm Hg or diastolic blood pressure  $\geq$ 85 mm Hg) or treatment of previously diagnosed hypertension, raised fasting plasma glucose ( $\geq$ 100 mg/dL), or previously diagnosed type 2 diabetes.

**TABLE 4** Prevalence of Liver Stiffness  $\geq$ 8 kPa (upper panel) or Liver Stiffness  $\geq$ 9.1 kPa (lower panel) depending on the severity of alcohol consumption and presence of metabolic syndrome among high risk alcohol drinkers (n = 268)

Alcohol consumption	Metabolic syndrome		P
	No	Yes	
(A) LS $\geq$ 8kPa			
<40 units/wk	2/132 (2%)	12/77 (16%)	.001
$\geq$ 40 units/wk	4/27 (15%)	9/34 (26%)	.270
(B) LS $\geq$ 9.1 kPa			
<40 units/wk	0/132 (0%)	8/77 (10%)	.001
$\geq$ 40 units/wk	2/27 (7%)	7/34 (21%)	.149

Note: Values are absolute numbers and percentage (in brackets). Chi-square test used for statistic comparison. 7 patients with no information on MS. 40 units was the cut-off that better classified the risk of fibrosis in the population of high-risk drinkers.

findings. Although some studies showed a protective effect of alcohol on fatty liver disease, other studies found a deleterious effect of alcohol consumption in patients with NAFLD.<sup>10-13,32</sup> These differences are probably related to the fact that most of these studies are retrospective, use heterogeneous methods for diagnosis of steatosis and fibrosis, and likely have selection bias that may preclude

a correct interpretation of the findings.<sup>33,34</sup> Few studies have addressed the possible effect of MS or its components on risk of liver disease in subjects with alcohol consumption. In a classic study, it was shown that obesity, a key component of MS, had a negative effect on the risk of mortality in subjects with advanced ArLD.<sup>14</sup> A more recent population study based on registry information showed a negative effect of diabetes and obesity on the risk of alcohol and virus-related liver disease.<sup>15</sup> On the other hand, two population-based studies performed in UK have found a synergistic effect of alcohol consumption and obesity as risk factors for hospitalizations because of cirrhosis and liver-related mortality.<sup>16,17</sup>

On this background, the strengths of the current study are 1/ the potential synergistic effect of MS and alcohol consumption was evaluated in a large and randomly selected population without known liver disease, and data were analyzed according to the duration and severity of alcohol consumption; and 2/ liver fibrosis was assessed in all subjects using TE which is currently considered the best non-invasive method of evaluation of liver fibrosis.<sup>28</sup> Moreover, liver histology was assessed in a high proportion of subjects with increased values of LS.

The main finding of the current study is that MS is an independent predictive factor of liver fibrosis in community representative subjects with alcohol consumption, thus confirming that MS and its components act synergistically with alcohol to increase the risk of liver fibrosis. MS increased four-fold the risk of liver fibrosis in the population of drinkers. Considering the high prevalence of obesity and other components of the MS in most countries, this finding is clinically relevant and calls for specific actions in the management of alcohol addiction in patients with MS to prevent the development of severe liver fibrosis. Moreover, patients with MS and alcohol consumption should be considered a high-risk group and specific strategies should be developed for early identification of liver fibrosis in this population. There is a significant overlap in the pathogenesis of liver disease caused by alcohol and MS that may explain the deleterious effect of metabolic risk factors on ArLD. Both ArLD and NAFLD share histological features that range from liver steatosis to inflammation and finally fibrosis deposition in the liver, with similar histological patterns.<sup>35</sup> From a mechanistic point of view, alcohol and metabolic risk factors have been shown to induce liver de novo lipogenesis and interfere with fatty acids metabolism<sup>36-38</sup>; both factors induce the secretion of adipocytokines that cause the activation of the innate immune system. Besides the composition of the intestinal microbiome has been shown to be disrupted by alcohol and metabolic risk factors in a similar manner, as metabolic risk factors have been shown to induce endogenous production of alcohol by the microbiome<sup>39</sup>; moreover, alcohol and metabolic risk factors have been shown to increase the levels of secondary bile acids that act as activators of inflammatory pathways.<sup>40,41</sup> All these common mechanisms of liver injury may be activated more intensely when both alcohol and MS concur as risk factors of liver disease in the same patient.

An interesting finding of the current study was that the relationship between MS and alcohol consumption was not observed



in patients with current markedly severe alcohol consumption (>40 units/wk). This finding is intriguing and deserves further investigation, as it is based in a limited number of patients. On the other hand, among high-risk drinkers without MS and alcohol consumption of less than 40 units/weeks the prevalence of significant LS was very low (2%) when using the cut-off of 8.0kPa, and it was of 0% when using the cut-off of 9.1kPa. Although this finding needs further investigation, the absence MS could be useful to define a subpopulation of high-risk drinkers with low risk of LS.

Another aspect that deserves discussion is that the prevalence of increased LS ranged between 5% in former and current moderate drinkers and 10% of current high-risk drinkers. However, these findings should be taken with caution because of the limited number of subjects with liver biopsy (47 of the 109 subjects with increased LS). Nevertheless, this proportion of liver biopsies is quite high for a population-based study.

This study has some limitations that should be mentioned. There are technical limitations referred to TE device, as XL probe was not available at the time this study was performed, so results on TE may be overestimated, particularly in obese subjects.<sup>42-44</sup> Also control-attenuated parameter (CAP) was not available; therefore, diagnosis of hepatic steatosis was based on FLI score; however, FLI has been shown as a reliable index to assess liver steatosis in the general population.<sup>24,45</sup> It should be also noted that the value of LS considered for increased LS using TE in this study was of 8.0 kPa, whereas in recent reviews and meta-analyses, the optimal LS cut-off value for liver fibrosis assessed by TE was around 9.1-9.2 kPa.<sup>30,31</sup> To minimize this limitation of the study, we also performed all the analyses using the LS value of 9.1 kPa. Interestingly, although a smaller number of subjects complied with criteria of significant liver fibrosis using the LS cut-off value of 9.1 kPa, no significant differences in the risk factors for increased LS or in the interaction between alcohol and MS were found using 8kPa or 9.1 kPa cut-offs.

Other potential drawback of this study is the lack of information about the reasons for stopping alcohol consumption in former drinkers; as this information was not collected, it may be possible that former drinkers were advised to stop drinking alcohol because of the presence of metabolic risk factors or steatosis, which may have caused a bias in the results of the study.

In conclusion, the findings of this population-based study show a significant impact of MS on the risk of liver fibrosis among subjects with alcohol consumption. These data highlight the effect of MS as a cofactor of liver fibrosis in hazardous drinkers. This observation should be taken into account for the management of subjects with alcohol-related liver disease and underlines the need for a strict control of metabolic risk factors especially in high risk drinkers.

#### DISCLOSURES

EP, GP, PT, EA, CE, AD, IG, JG, NF, and LC have nothing to declare. PG has participated on advisory boards for the following: Grifols, Gilead, Intercept, Mallinckrodt, and Ferring. He has received Investigator promoted research grants from Mallinckrodt, Gilead, and Grifols. All outside the submitted work.

#### AUTHORS' CONTRIBUTIONS

EP and GP performed study concept and design, acquisition of data, analysis and interpretation of data, and drafting of the manuscript. PT, JG, EA, CE, IG, and ABR performed acquisition of data and critical review of the manuscript. AD carried out histopathological analysis of liver biopsies and critical reviewing of the manuscript. PG performed study concept and design, acquisition of data, analysis and interpretation of data, and drafting of the manuscript. NF and LC performed study concept and design, acquisition of data, and analysis and interpretation of data.

#### DATA AVAILABILITY STATEMENT

This article has no original data deposited in an online repository store.

#### ORCID

Pere Ginés  <https://orcid.org/0000-0003-4657-4504>

#### REFERENCES

- Pimpin L, Cortez-Pinto H, Negro F, et al. Burden of liver disease in Europe: epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. *J Hepatol*. 2018;69:718-735.
- Sepanlou SG, Safiri S, Bisignano C, et al. The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:245-266. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30349-8](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30349-8)
- Younossi Z, Henry L. Contribution of alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease to the burden of liver-related morbidity and mortality. *Gastroenterology*. 2016;150:1778-1785. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.03.005>
- Williams R, Alexander G, Armstrong I, et al. Disease burden and costs from excess alcohol consumption, obesity, and viral hepatitis: fourth report of the Lancet Standing Commission on Liver Disease in the UK. *Lancet*. 2018;391:1097-1107.
- Paik JM, Golabi P, Younossi Y, Mishra A, Younossi ZM. Changes in the global burden of chronic liver diseases from 2012 to 2017: the growing impact of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2020. <https://doi.org/10.1002/hep.31173>
- Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15:11-20.
- Estes C, Anstee QM, Arias-Loste MT, et al. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016-2030. *J Hepatol*. 2018;69:896-904. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.05.036>
- Hutchinson SJ, Bird SM, Goldberg DJ. Influence of alcohol on the progression of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3:1150-1159. [https://doi.org/10.1016/S1542-3565\(05\)00407-6](https://doi.org/10.1016/S1542-3565(05)00407-6)
- Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, et al. Natural course of chronic HCV and HBV infection and role of alcohol in the general population: the Dionysos Study. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:2248-2253. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.01948.x>
- Dunn W, Sanyal AJ, Brunt EM, et al. Modest alcohol consumption is associated with decreased prevalence of steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Hepatol*. 2012;57:384-391. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.03.024>
- Hajifathalian K, Torabi Sagvand B, McCullough AJ. Effect of alcohol consumption on survival in nonalcoholic fatty liver disease: a



- national prospective cohort study. *Hepatology*. 2019;70:511-521. <https://doi.org/10.1002/hep.30226>
12. Chang Y, Ryu S, Kim Y, et al. Low levels of alcohol consumption, obesity, and development of fatty liver with and without evidence of advanced fibrosis. *Hepatology*. 2020;71:861-873. <https://doi.org/10.1002/hep.30867>
  13. Åberg F, Puukka P, Salomaa V, et al. Risks of light and moderate alcohol use in fatty liver disease: follow-up of population cohorts. *Hepatology*. 2020;71:835-848. <https://doi.org/10.1002/hep.30864>
  14. Naveau S, Giraud V, Borotto E, Aubert A, Capron F, Chaput J. Excess weight risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology*. 1997;25:108-111. <https://doi.org/10.1002/hep.510250120>
  15. Stepanova M, Rafiq N, Younossi ZM. Components of metabolic syndrome are independent predictors of mortality in patients with chronic liver disease: a population-based study. *Gut*. 2010;59:1410-1415. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.213553>
  16. Liu B, Balkwill A, Reeves G, Beral V: Million Women Study Collaborators. Body mass index and risk of liver cirrhosis in middle aged UK women: prospective study. *BMJ*. 2010;340:c912. <https://doi.org/10.1136/bmj.c912>
  17. Hart CL, Morrison DS, Batty GD, Mitchell RJ, Davey Smith G. Effect of body mass index and alcohol consumption on liver disease: analysis of data from two prospective cohort studies. *BMJ*. 2010;340:c1240. <https://doi.org/10.1136/bmj.c1240>
  18. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive assessment of liver disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2019;156:1264-1281.e4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.12.036>
  19. Castéra 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;128:343-350. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.11.018>
  20. Friedrich-Rust M, Poynard T, Castera L. Critical comparison of elastography methods to assess chronic liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13:402-411.
  21. Caballería L, Pera G, Arteaga I, et al. High prevalence of liver fibrosis among European adults with unknown liver disease: a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:1138-1145.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2017.12.048>
  22. Kalinowski A, Humphreys K. Governmental standard drink definitions and low-risk alcohol consumption guidelines in 37 countries. *Addiction*. 2016;111:1293-1298. <https://doi.org/10.1111/add.13341>
  23. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome - a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366:1059-1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67402-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67402-8)
  24. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006;6:33. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-6-33>
  25. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007;45:846-854. <https://doi.org/10.1002/hep.21496>
  26. Shah AG, Lydecker A, Murray K, et al. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7:1104-1112. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2009.05.033>
  27. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43:1317-1325. <https://doi.org/10.1002/hep.21178>
  28. European Association for Study of Liver; Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*. 2015;63:237-264. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.006>
  29. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41:1313-1321. <https://doi.org/10.1002/hep.20701>
  30. Serra-Burriel M, Graupera I, Torán P, et al. Transient elastography for screening of liver fibrosis: cost-effectiveness analysis from six prospective cohorts in Europe and Asia. *J Hepatol*. 2019;71:1141-1151. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.08.019>
  31. Nguyen-Khac E, Thiele M, Voican C, et al. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis in patients with alcohol-related liver disease by transient elastography: an individual patient data meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3:614-625. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(18\)30124-9](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(18)30124-9)
  32. Ajmera V, Belt P, Wilson LA, et al. Among patients with nonalcoholic fatty liver disease, modest alcohol use is associated with less improvement in histologic steatosis and steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:1511-1520.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.01.026>
  33. Ajmera VH, Terrault NA, Harrison SA. Is moderate alcohol use in nonalcoholic fatty liver disease good or bad? A critical review. *Hepatology*. 2017;65:2090-2099.
  34. Boyle M, Masson S, Anstee QM. The bidirectional impacts of alcohol consumption and the metabolic syndrome: cofactors for progressive fatty liver disease. *J Hepatol*. 2018;68:251-267. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.11.006>
  35. Lackner C, Tiniakos D. Fibrosis and alcohol-related liver disease. *J Hepatol*. 2019;70:294-304.
  36. Jou J, Choi SS, Diehl AM. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2008;28:370-379. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1091981>
  37. Tamura S, Shimomura I. Contribution of adipose tissue and de novo lipogenesis to nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2005;115:1139-1142.
  38. Kang L, Sebastian BM, Pritchard MT, Pratt BT, Previs SF, Nagy LE. Chronic ethanol-induced insulin resistance is associated with macrophage infiltration into adipose tissue and altered expression of adipocytokines. *Alcohol Clin Exp Res*. 2007;31:1581-1588. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00452.x>
  39. Zhu L, Baker SS, Gill C, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013;57:601-609. <https://doi.org/10.1002/hep.26093>
  40. Kakiyama G, Hylemon PB, Zhou H, et al. Colonic inflammation and secondary bile acids in alcoholic cirrhosis. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 2014;306. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00315.2013>
  41. Ferslew BC, Xie G, Johnston CK, et al. Altered bile acid metabolome in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci*. 2015;60:3318-3328. <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3776-8>
  42. Puigvehi M, Broquetas T, Coll S, et al. Impact of anthropometric features on the applicability and accuracy of FibroScan® (M and XL) in overweight/obese patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017;32:1746-1753. <https://doi.org/10.1111/jgh.13762>
  43. Myers RP, Pomier-Layrargues G, Kirsch R, et al. Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients. *Hepatology*. 2012;55:199-208. <https://doi.org/10.1002/hep.24624>
  44. Attia D, Bantel H, Lenzen H, Manns MP, Gebel MJ, Potthoff A. Liver stiffness measurement using acoustic radiation force impulse elastography in overweight and obese patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;44:366-379. <https://doi.org/10.1111/apt.13710>
  45. Fabrellas N, Hernández R, Graupera I, et al. Prevalence of hepatic steatosis as assessed by controlled attenuation parameter (CAP) in

subjects with metabolic risk factors in primary care. A population-based study. *PLoS One*. 2018;13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200656>

#### SUPPORTING INFORMATION

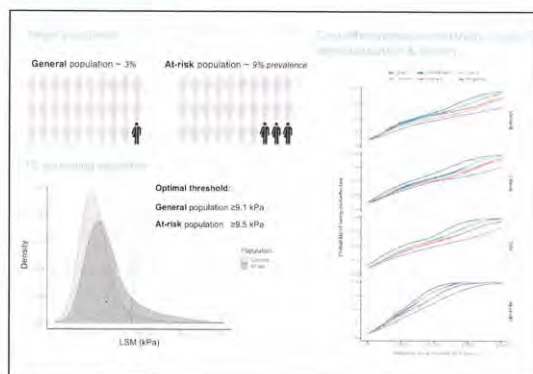
Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

**How to cite this article:** Pose E, Pera G, Torán P, et al. Interaction between metabolic syndrome and alcohol consumption; risk factors of liver fibrosis: A population-based study. *Liver Int*. 2021;00:1-9. <https://doi.org/10.1111/liv.14830>



## Transient elastography for screening of liver fibrosis: Cost-effectiveness analysis from six prospective cohorts in Europe and Asia

### Graphical abstract



### Highlights

- Optimal liver stiffness thresholds for community-based screening of at-risk patients are 9.1–9.5 kPa for fibrosis (stages  $\geq$ F2).
- Transient elastography is a cost-effective intervention for identifying patients with liver fibrosis in primary care.
- Between 2,500 to 6,500 PPP-adjusted euros are needed to gain an extra year of life, adjusted for quality of life.
- The survival effect of screening is most pronounced for the identification of significant ( $\geq$ F2) fibrosis.

### Authors

Miquel Serra-Burriel, Isabel Graupera, Pere Torán, ..., Laurent Castera, Pere Ginès, Frank Lammert

### Correspondence

frank.lammert@uks.eu  
(F. Lammert)

### Lay summary

The lack of optimized public health screening strategies for the detection of liver fibrosis in adults without known liver disease presents a major healthcare challenge. Analyses from 6 independent international cohorts, with transient elastography measurements, show that a community-based risk-stratification strategy for alcohol-related and non-alcoholic fatty liver diseases is cost-effective and potentially cost saving for our healthcare systems, as it leads to earlier identification of patients.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2019.08.019>

© 2019 European Association for the Study of the Liver. Published by Elsevier B.V. All rights reserved. J. Hepatol. 2019, 71, 1141–1151





## Transient elastography for screening of liver fibrosis: Cost-effectiveness analysis from six prospective cohorts in Europe and Asia

Miquel Serra-Burriel<sup>1,†</sup>, Isabel Graupera<sup>2,3,†</sup>, Pere Torán<sup>4</sup>, Maja Thiele<sup>5</sup>, Dominique Roulot<sup>6,7</sup>, Vincent Wai-Sun Wong<sup>8</sup>, Indra Neil Guha<sup>9</sup>, Núria Fabrellas<sup>10</sup>, Anita Arslanow<sup>11,12</sup>, Carmen Expósito<sup>4</sup>, Rosario Hernández<sup>13</sup>, Grace Lai-Hung Wong<sup>8</sup>, David Harman<sup>9</sup>, Sarwa Darwish Murad<sup>14</sup>, Aleksander Krag<sup>5</sup>, Guillem Pera<sup>4</sup>, Paolo Angeli<sup>15</sup>, Peter Galle<sup>11</sup>, Guruprasad P. Aithal<sup>9</sup>, Llorenç Caballeria<sup>4</sup>, Laurent Castera<sup>16,17</sup>, Pere Ginès<sup>2,3</sup>, Frank Lammert<sup>12,\*</sup>, on behalf of the investigators of the LiverScreen Consortium

<sup>1</sup>Centre de Recerca en Economia i Salut – UPF, Universitat Pompeu Fabra, Spain; <sup>2</sup>Liver Unit Hospital Clinic, Institut D'investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), Centro de Investigación En Red de Enfermedades Hepáticas Y Digestivas (Ciberehd), Barcelona, Spain; <sup>3</sup>Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat de Barcelona, Spain; <sup>4</sup>USR Metropolitana Nord, IDIAP Jordi Gol, ICS Institut Català de la Salut, Spain; <sup>5</sup>Odense University Hospital, University of Southern Denmark and Odense, Patient data Exploratory Network (OPEN), Department of Gastroenterology and Hepatology, Odense, Denmark; <sup>6</sup>Department of Hepatology, AP-HP, Hôpital Avicenne, Bobigny, France; <sup>7</sup>Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, France; <sup>8</sup>The Chinese University of Hong Kong, Dept. of Medicine and Therapeutics, Hong Kong; <sup>9</sup>NIHR Nottingham Biomedical Research Centre, Nottingham University Hospitals NHS Trust and the University of Nottingham, Nottingham, UK; <sup>10</sup>Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, School of Nursing, Universitat de Barcelona, Institut D'investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), Centro de Investigación En Red de Enfermedades Hepáticas Y Digestivas (Ciberehd), Barcelona, Spain; <sup>11</sup>Department of Internal Medicine I, University Medical Centre of the Johannes Gutenberg-University Mainz, Mainz, Germany; <sup>12</sup>Department of Medicine II, Saarland University Medical Center, Saarland University, Homburg, Germany; <sup>13</sup>CAP La Marina, Institut Català de la Salut de Barcelona, Barcelona, Spain; <sup>14</sup>Department of Gastroenterology and Hepatology, Erasmus MC University Medical Centre, Rotterdam, the Netherlands; <sup>15</sup>Of Internal Medicine and Hepatology, of Medicine (Dimed), University and General Hospital of Padova, Italy; <sup>16</sup>Hôpital Beaujon, Department of Hepatology, Hôpital Beaujon, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Clichy, France; <sup>17</sup>Université Paris VII, Inserm Umr 1149, Centre de Recherche Sur L'inflammation, Paris, France

**Background & Aims:** Non-alcoholic fatty liver disease and alcohol-related liver disease pose an important challenge to current clinical healthcare pathways because of the large number of at-risk patients. Therefore, we aimed to explore the cost-effectiveness of transient elastography (TE) as a screening method to detect liver fibrosis in a primary care pathway.

**Methods:** Cost-effectiveness analysis was performed using real-life individual patient data from 6 independent prospective cohorts (5 from Europe and 1 from Asia). A diagnostic algorithm with conditional inference trees was developed to explore the relationships between liver stiffness, socio-demographics, comorbidities, and hepatic fibrosis, the latter assessed by fibrosis scores (FIB-4, NFS) and liver biopsies in a subset of 352 patients. We compared the incremental cost-effectiveness of a screening strategy against standard of care alongside the numbers needed to screen to diagnose a patient with fibrosis stage  $\geq$ F2.

**Results:** The data set encompassed 6,295 participants (mean age  $55 \pm 12$  years, BMI  $27 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>, liver stiffness  $5.6 \pm 5.0$  kPa). A 9.1 kPa TE cut-off provided the best accuracy for the diagnosis of significant fibrosis ( $\geq$ F2) in general population settings, whereas a threshold of 9.5 kPa was optimal for populations at-risk of alcohol-related liver disease. TE with the proposed cut-offs outperformed fibrosis scores in terms of accuracy. Screening with TE was cost-effective with mean incremental cost-effectiveness ratios ranging from 2,570 €/QALY (95% CI 2,456–2,683) for a population at-risk of alcohol-related liver disease (age  $\geq 45$  years) to 6,217 €/QALY (95% CI 5,832–6,601) in the general population. Overall, there was a 12% chance of TE screening being cost saving across countries and populations.

**Conclusions:** Screening for liver fibrosis with TE in primary care is a cost-effective intervention for European and Asian populations and may even be cost saving.

**Lay summary:** The lack of optimized public health screening strategies for the detection of liver fibrosis in adults without known liver disease presents a major healthcare challenge. Analyses from 6 independent international cohorts, with transient elastography measurements, show that a community-based risk-stratification strategy for alcohol-related and non-alcoholic fatty liver diseases is cost-effective and potentially cost saving for our healthcare systems, as it leads to earlier identification of patients.

© 2019 European Association for the Study of the Liver. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Alcohol-related liver disease; Liver fibrosis; Non-alcoholic fatty liver disease; Stratified screening; Transient elastography.

Received 26 October 2018; received in revised form 4 August 2019; accepted 17 August 2019; available online 27 August 2019

\* Corresponding author. Address: Department of Medicine II, Saarland University Medical Center, Saarland University, Homburg, Germany.

E-mail address: frank.lammert@uks.eu (F. Lammert).

<sup>†</sup> These authors contributed equally to this work.



### Introduction

Alcohol-related liver disease (ALD) and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) are leading causes of chronic liver diseases, hepatocellular carcinoma (HCC) and liver-related deaths worldwide.<sup>1,2</sup> While the causes, consequences and treatment strategies for ALD and NAFLD are being studied and developed,<sup>3–5</sup> the majority of patients are still diagnosed at an advanced stage of disease.<sup>6</sup> Consequently, the course of action towards early disease detection from a public health perspective remains a grey area in hepatology.<sup>7</sup>

Severe fibrosis and cirrhosis is the major predictor of excess mortality, liver transplantation and liver-related events in patients with NAFLD and ALD.<sup>8,9</sup> Consequently, early detection before progression to advanced fibrosis might be more beneficial and cost-effective, as it allows for timely lifestyle interventions, patient guidance, and disease monitoring.

The high prevalence of ALD and NAFLD, in combination with the slow, asymptomatic disease progression, quickly translate into pressure on our healthcare systems, specifically on general practitioners and primary healthcare specialists. The search for optimal patient management and care pathways is thus of utmost importance, including preventive screening programmes.<sup>10</sup>

The search for non-invasive diagnostic tools for the staging of liver fibrosis in NAFLD and ALD has widened. Transient elastography (TE) has been shown to be a reliable diagnostic tool for fibrosis assessment.<sup>11,12</sup> Use of TE could lead to highly cost-effective care pathways as compared to magnetic resonance elastography due to significantly lower cost per test.<sup>13,14,15</sup> Other alternatives, mostly based on serum biomarkers such as the Fibrosis-4 score (FIB-4) or the NAFLD Fibrosis Score (NFS), have also been developed and validated.<sup>16</sup>

Recently, there have been individual attempts in the literature to assess prevalence rates, diagnostic accuracy and potential algorithms to stratify patients at risk of severe fibrosis.<sup>17–22</sup> However, mainly due to the limited sample size and the heterogeneity of populations and healthcare systems, a broader assessment of the technology implementation, encompassing both health and economic outcomes is lacking.

The aim of the present study is to assess the cost-effectiveness of a liver screening program and surveillance intervention based on individual risk factors, using a TE screening algorithm confirmed by percutaneous liver biopsy into a broad spectrum of populations without known liver disease, communities, and healthcare systems.

### Patients and methods

#### Study populations

Patients from 7 previous independent prospective studies that have used TE (FibroScan) as a screening method for liver fibrosis detection were included in the study. The final cohort includes 6,295 patients from 6 different countries: France (FR), Spain (ES), Denmark (DK), the United Kingdom (UK), Germany (DE), and Hong Kong (HK).<sup>23–29</sup> For the analysis we have considered the 2 studies from Spain as the same cohort, and have defined 6 cohorts, one from each country. The cohorts from ES, DE and HK include patients from the general population above 18 years, the cohort from France includes patients from the general population above 45 years, the cohort from UK includes patients above 18 years with risk factors for chronic liver disease (with hazardous alcohol use or diabetes), and the cohort from Den-

mark comprised only patients above 18 years at risk for hazardous alcohol consumption. Hazardous alcohol use was defined as an alcohol consumption >14 units per week for women and >21 units per week for men.<sup>5</sup> Data on demographics, physical exam, clinical and laboratory parameters were included alongside comorbidities.

The cohorts from Denmark, Spain, France and the UK were designed to obtain liver biopsies to confirm liver fibrosis. All patients from Denmark were invited to undergo liver biopsy due to a history of, either prior or ongoing, excessive drinking. The Spanish patients (general population cohort) were invited to undergo liver biopsy if they had a liver stiffness measurement (LSM) >6.8 kPa (n=299), but only a third of these patients accepted. French patients were referred for biopsy if they had an LSM >8.0 kPa, and UK patients were if they had an LSM >8.2 kPa and at least 1 risk factor, either for alcohol or metabolic syndrome.

Finally, data from 352 patients with successful liver biopsy were included (199 from Denmark, 101 from Spain, 27 from France, 25 from the UK). Liver fibrosis was classified using the Kleiner scoring system.<sup>30</sup> FIB-4 and NFS scores<sup>31</sup> were also computed for each biopsied patient in order to assess the comparative diagnostic accuracy of these screening instruments.

Fig. 1 presents the flowchart of enrolment, eligibility, analysis and available liver biopsies of each cohort. Inference regarding fibrosis staging is constrained by the 5.5% of patients who underwent liver biopsy.

#### Statistical analysis

Databases were merged and analysed with conditional inference trees (CTREE)<sup>12</sup> to explore the relationships between socio-demographics, comorbidities, LSM, and hepatic fibrosis, as assessed by liver biopsy. The CTREE was fitted to the liver biopsied group to obtain the optimal cut-off points for which the distribution of fibrosis stage classification has highest diagnostic accuracy. Model's discriminatory accuracy was assessed by means of the area under the receiver-operating-characteristics curve (ROC) for binary outcome [ $\geq$ F2], and 3-class [F0-F1, F2-F3, F4] accuracy was used to test the accuracy of the CTREE model.<sup>14</sup>

In the development sample, values were missing in 6% of the data fields. They were imputed with a multiple imputation random forest, obtaining a normalized root mean squared error of 0.0626 for numeric variables and a proportion of falsely classified entries of 0.0136. In order to avoid overfitting of the diagnostic model, a 5-fold cross-validation procedure with 5 repeats was undertaken. Class balance across fibrosis stages was ensured using the synthetic minority oversampling technique.<sup>30</sup> Calibration between observed and predicted probabilities was performed by visual inspection of calibration plots. Fibrosis stages F2, F3 and F4 were grouped in order to assess binary discrimination performance.

Best-subset analysis<sup>32</sup> was performed for the covariates other than LSM in order to achieve a theoretical reduction in unnecessary testing. The predictive models included all available predictors as potential candidates to enter the diagnostic pathway: gender, age, active alcohol consumption, active smoking, viral hepatitis, weight, height, BMI, abdominal perimeter, systolic blood pressure, diastolic blood pressure, diabetes mellitus, obesity, hypertension, glucose level, creatinine, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, aspartate aminotrans-



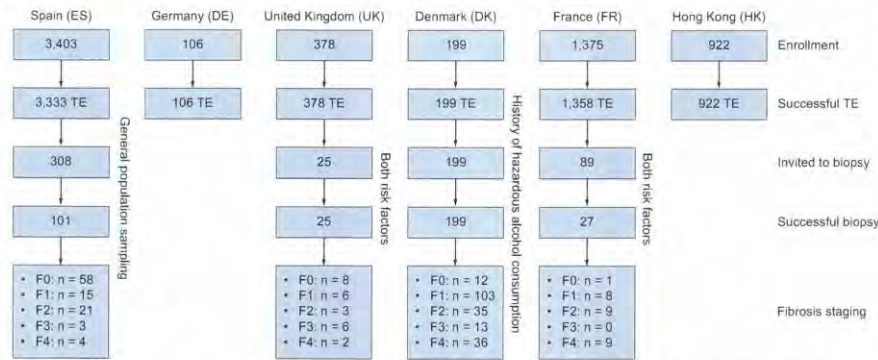


Fig. 1. Patient flowchart, combined database. Enrolment, TE and biopsy for studies in 6 countries in Europe and Asia. TE, transient elastography.

ferase, alanine aminotransferase, gamma-glutamyltransferase (GGT), albumin, ferritin, leukocytes, haemoglobin, platelets, TE probe (M or XL), TE LSM value and TE IQR. Because of the population unobserved heterogeneity, fixed effects were pre-specified in all models. The numbers needed to screen (NNS) in order to diagnose one case with significant fibrosis were computed for each country and risk factor, including general population, obesity, diabetes mellitus, and high-risk alcohol consumption. All statistical analysis were performed with R 3.4.1.<sup>36</sup>

**Economic modelling**

The results of the 6 screening program cohorts were used in the parameter tuning of a previously published cost-effectiveness model<sup>27</sup> to assess the cost-effectiveness of screening in the general population as well as in populations with risk factors for chronic liver diseases such as diabetes mellitus, obesity, or alcohol consumption. This economic model compares 2 different pathways of detection and risk stratification for advanced chronic liver disease (significant fibrosis) in adults with suspicion of NAFLD or ALD in a primary care setting. One pathway uses TE and the other pathway uses aminotransferase activities (as standard of care) to detect patients with chronic liver disease. The model considers the prevalence of each fibrosis stage in a given population diagnosed by TE and aminotransferase activities. It also considers the misclassification of diagnosis, the natural disease progression rate in each stage, the quality of life measured as quality-adjusted life years (QALYs), the annual costs of each stage of the disease, and the diagnostic costs.

The perspective of the economic model was generated with provider-direct costs only, with a 30-year time horizon and a 3% discount rate both on health outcomes and costs. Health outcomes were measured as QALYs. No assumptions regarding willingness to pay thresholds were made due to the multiplicity of healthcare systems, however, following WHO recommendations<sup>38</sup> for international thresholds, we define “highly cost-effective interventions” as those below one gross domestic product (GDP) per capita of the country per QALY gained. Costs are in 2017 euros, purchasing power parity (PPP) was adjusted for

all 6 countries. The target population was a cohort of patients who were 45 years old on average and who had either a history of alcohol consumption, diabetes, metabolic syndrome, or a combination thereof. Both failure rates for TE and liver biopsy were considered.<sup>39</sup>

Incremental cost-effectiveness ratios (ICERs)<sup>40</sup> were defined as the principal outcome of the economic model. ICER expresses the economic value of an intervention with respect to a comparator, in this case screening with TE compared to standard of care. Using differences in QALYs as an incremental cost-effectiveness measure allowed us to compare value across interventions and pathologies.

To be able to apply the model to different healthcare systems, several assumptions had to be made, mostly regarding care and cost structure, rate of fibrosis progression, and treatment effectiveness in different fibrosis stages. Hence, probabilistic sensitivity analysis was performed for these parameters to account for the level of uncertainty associated with the estimates.

The only difference applied to the modelling setting was in the elastography testing cost structure, which is described in the Appendix; details of the assumptions, states and transition probabilities of the present study are also presented there. All modelling analyses was performed in Microsoft Excel 2016 and are available in the Appendix for further non-commercial use.

**Results**

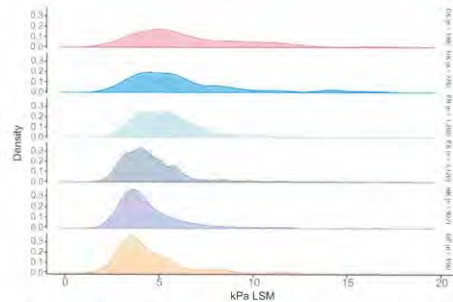
**Patient demographics**

Out of the 6,295 patients, LSM was performed successfully with FibroScan devices in 6,199 (1.5% failure rate) patients who were included in the subsequent analysis. Table 1 shows the baseline characteristics of the 6 cohorts. Patients had a mean age of 54.7 years (±12.2), BMI of 27.1 kg/m<sup>2</sup> (±4.9) and abdominal perimeter of 91 cm (±11.5); 52% were women, 18% smoked, 33% were obese, and 13% had type 2 diabetes. In total, 3,223 patients (52%) were from Southern Europe, 1,984 (32%) were from Northern Europe, and 992 (16%) were from Asia.

**Table 1. Baseline characteristics of patients from 6 countries included in the study.**

	ES n = 3,333	DE n = 106	UK n = 378	DK n = 199	FR n = 1,357	HK n = 922
Women, n (%)	1,906 (57.2)	79 (74.5)	123 (32.5)	53 (26.6)	553 (40.7)	533 (57.8)
Age, years	55.0 (12.1)	35.7 (12.8)	61.8 (15.0)	54.9 (11.3)	57.9 (8.95)	48.1 (10.5)
Active smoking	0.23 (0.42)	n.a.	n.a.	0.59 (0.49)	n.a.	0.10 (0.30)
Viral hepatitis	0.01 (0.12)	0.02 (0.14)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	n.a.	0.00 (0.00)
BMI, kg/m <sup>2</sup>	28.3 (4.91)	24.2 (4.19)	28.5 (5.25)	26.8 (5.27)	26.7 (4.23)	22.8 (3.50)
Abdominal perimeter, cm	94.7 (12.8)	80.3 (11.6)	n.a.	n.a.	90.0 (11.4)	81.7 (10.1)
DM, %	10	4	56	2	n.a.	4
Obesity, %	31	10	35	28	20	3
Arterial HT, %	26	7	46	28	n.a.	16
Glucose, mmol/L	6.05 (14.0)	5.12 (0.64)	n.a.	6.81 (1.91)	5.75 (1.67)	5.14 (0.92)
Creatinine, mg/dl	0.90 (0.24)	0.85 (0.16)	1.02 (0.28)	0.73 (0.17)	0.82 (0.18)	0.75 (0.16)
Cholesterol, mmol/L	5.53 (1.03)	4.88 (0.98)	4.61 (1.27)	5.05 (1.24)	5.41 (1.02)	5.16 (1.00)
Triglycerides, mmol/L	1.24 (0.81)	1.14 (0.63)	1.74 (1.03)	1.54 (1.02)	1.32 (0.89)	1.37 (1.19)
AST, IU/ml	23.7 (9.15)	25.1 (8.92)	28.0 (18.9)	n.a.	22.6 (14.6)	21.4 (12.2)
ALT, IU/ml	23.9 (14.3)	23.5 (11.8)	28.2 (19.3)	40.0 (31.5)	25.3 (15.5)	26.0 (16.0)
CGT, IU/ml	33.4 (38.7)	23.3 (17.4)	n.a.	226 (392)	37.4 (56.3)	n.a.
Bilirubin, μmol/L	11.3 (5.08)	8.93 (6.24)	12.0 (5.06)	14.0 (10.9)	n.a.	13.5 (5.96)
Albumin, g/L	44.0 (3.25)	n.a.	37.8 (2.92)	40.2 (5.27)	n.a.	45.2 (2.58)
Ferritin, μg/L	118 (119)	n.a.	n.a.	267 (384)	165 (179)	n.a.
Leukocytes, G/L	9.85 (1.76)	n.a.	7.02 (2.19)	n.a.	6.42 (1.83)	6.01 (1.51)
Platelets, G/L	243 (60.0)	n.a.	241 (62.3)	n.a.	251 (59.4)	244 (54.3)
Probe, n (%):						
M	3,233 (97.0)	104 (99.0)	338 (89.4)	186 (95.4)	1,357 (100)	922 (100)
XL	96 (2.88)	1 (0.95)	40 (10.6)	9 (4.62)	0	0
TE, kPa	4.94 (2.18)	4.62 (1.57)	7.98 (7.41)	17.2 (20.6)	5.72 (2.36)	4.84 (2.62)

Average values and standard deviations in brackets (s), unless otherwise indicated. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; DM, diabetes mellitus; CGT, gamma-glutamyl transferase; HT, hypertension. ES = Spanish cohorts 1&2; DE = German cohort; UK = British cohort; DK = Danish cohort; FR = French cohort; HK = Hong Kong cohort.



**Fig. 2. TE LSM distributions across studies.** The figure presents the non-parametric kernel distribution of liver stiffness measurements in kPa across studies. Studies ES and DE present a somewhat similar distribution, while studies DK and UK present more skewed LSM distributions in accordance with the risk factor, either NAFLD, ALD or both, sampling of the population. Study FR distribution lays in between the previous studies. Study from HK, the Asian population, presents a less right-shifted distribution of LSM. ALD, alcohol-related liver disease; LSM, liver stiffness measurement; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; TE, transient elastography. ES = Spanish cohorts 1&2; DE = German cohort; UK = British cohort; DK = Danish cohort; FR = French cohort; HK = Hong Kong cohort.

**Liver stiffness measurements (LSM)**

The majority of LSMs were performed with an M probe (92.3%), whereas the others were performed with an XL probe (7.7%). Mean LSM was 5.6 kPa (±5.0). Fig. 2 presents the non-parametric density distributions in kPa of LSM in each of the included cohorts. It can be observed that in the Asian population

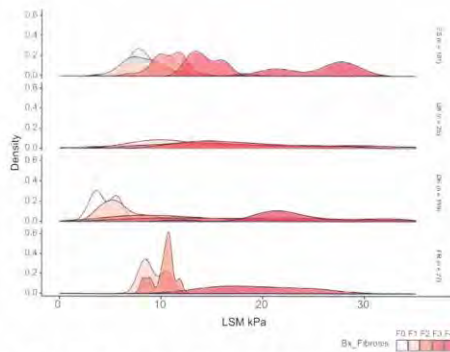
(HK), the LSM distribution is significantly shifted to the left compared to European populations, and only the German cohort was comparable in terms of LSM distribution. Within the European populations, British (UK) and Danish (DK) patients present similarly skewed to the right LSM distributions, whereas the Spanish (ES), German (DE) and French (FR) cohorts were less skewed.

**Fibrosis stages in liver biopsy and LSM cut-offs for significant fibrosis in general and at-risk populations**

Out of the 299 patients from the Spanish studies who were invited to perform liver biopsy, 101 underwent successful liver biopsy. In this group, 88 had NAFLD and 7 were diagnosed with ALD; the remaining patients had no major histopathological abnormalities. The distribution of fibrosis stages (according to Kleiner scores) were 57% for F0, 15% for F1, 21% for F2, 3% for F3, and 4% for F4. With respect to the Danish cohort, we included 199 with successful liver biopsy. Fibrosis distribution was 6% F0, 52% F1, 18% F2, 7% F3, and 18% F4. Regarding the French cohort, 89 patients presented with an LSM >8.0 kPa and 27 underwent liver biopsy with a fibrosis distribution of 4% F0, 30% F1, 33% F2, 0% F3, and 33% F4. Finally, 25 biopsies were performed in the UK cohort out of 98 with an LSM >8.2 kPa, with a fibrosis distribution of 32% F0, 24% F1, 12% F2, 24% F3, and 8% F4.

Fig. 3 presents the LSM distribution in kPa of biopsied cohorts according to fibrosis stages. The distribution of fibrosis staging in the general population (ES and FR cohorts), risk population for both NAFLD/ALD (UK cohort) and risk population for ALD (DK cohort) differs significantly (p < 0.001). Patients in the DK and UK cohorts showed more advanced liver fibrosis. Table 2 summarizes the clinical, demographic and analytical character-





**Fig. 3. TE LSM distribution across fibrosis stage groups.** Kernel density estimates of TE LSM by fibrosis stage and sampling strategy. The ES studies (n = 101) are grouped and presented in the upper panel. UK biopsied subsample (n = 25) is represented in the middle panel, while studies DK (n = 199) and FR (n = 27) are presented in the lower panels. For the general population (ES) the distribution of LSM is more concentrated around defined thresholds. In ALD biopsied populations (UK & DK) F2-F4 LSMs are flattened with respect to the general population. ALD, alcohol-related liver disease; LSM, liver stiffness measurement; TE, transient elastography. ES = Spanish cohorts 1&2; UK = British cohort; DK = Danish cohort; FR = French cohort.

istics of the cohorts. In comparison to the DK cohort, patients from the ES and UK cohorts more frequently presented with characteristics of the metabolic syndrome and had a higher prevalence of obesity (72–76% vs. 28%), arterial hypertension (42–60% vs. 28%), and diabetes (28–84% vs. 2%). On the other hand, patients from the DK cohort displayed higher serum GGT activities, probably related to alcohol consumption, and significantly lower serum albumin concentrations, corresponding to the higher prevalence of significant fibrosis in this cohort. However, it is worth noting that the small UK biopsied cohort has a high prevalence of concomitant risk factors for both NAFLD and ALD (76% obesity, 84% diabetes, 76% hazardous alcohol use).

Next, we evaluated the best cut-off for significant fibrosis (stage  $\geq$ F2) in the set of patients with liver biopsies (n = 352). Through CTREE, an LSM cut-off greater than 19.1 kPa was shown to exhibit a conditional probability of 87.3% for fibrosis stage  $\geq$ F2 and 57.1% for stage F4 (cirrhosis) regardless of the sampled population. For LSM values below 19.1 kPa, distinct optimal cut-offs were identified, which depended upon the sampled populations: For general population sampling (ES cohort), an LSM threshold of  $>$ 9.1 kPa was found to provide the best diagnostic accuracy with an average negative predictive value of 88.1% for finding fibrosis stage  $\geq$ F2 in patients below this threshold and a probability of 57.6% for finding it in patients above this cut-off. Table 3 presents the complete diagnostic yield of the CTREE model.

**Table 2. Baseline characteristics of patients from cohorts with liver biopsies available.**

	ES n = 101	UK n = 25	DK n = 199	FR n = 27	p value
Women, n (%)	33 (32.7%)	5 (20.0%)	53 (26.6%)	2 (7.41%)	0.055
Age, years	58.1 (8.83)	61.1 (10.2)	54.9 (11.3)	59.2 (9.33)	0.003
Hazardous alcohol use	0.16 (0.37)	0.76 (0.44)	1.00 (0.00)	0.70 (0.47)	<0.001
Active smoking	0.24 (0.43)	n.a.	0.59 (0.49)	n.a.	<0.001
Viral hepatitis	0.01 (0.10)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	n.a.	0.331
BMI, kg/m <sup>2</sup>	33.1 (5.30)	33.9 (6.05)	26.8 (5.27)	28.4 (5.89)	<0.001
DM	0.28 (0.45)	0.84 (0.37)	0.02 (0.14)	n.a.	<0.001
Obesity	0.72 (0.45)	0.76 (0.44)	0.28 (0.45)	0.33 (0.48)	<0.001
Arterial hypertension	0.42 (0.50)	0.60 (0.50)	0.28 (0.45)	n.a.	0.001
Glucose, mmol/L	6.30 (1.69)	n.a.	6.81 (1.91)	7.31 (3.52)	0.035
Creatinine, mg/dl	0.95 (0.22)	0.99 (0.22)	0.73 (0.17)	0.80 (0.22)	<0.001
Cholesterol, mmol/L	5.51 (0.94)	4.06 (1.20)	5.05 (1.24)	5.15 (1.04)	<0.001
Cholesterol LDL, mmol/L	3.40 (0.95)	1.99 (1.03)	3.09 (1.52)	3.19 (0.82)	<0.001
Cholesterol HDL, mmol/L	1.26 (0.27)	1.18 (0.34)	1.40 (0.50)	1.28 (0.39)	0.018
Triglycerides, mmol/L	1.84 (1.09)	2.06 (0.94)	1.54 (1.02)	1.49 (0.98)	0.022
ALT, IU/ml	39.1 (25.8)	43.2 (23.3)	40.0 (31.5)	61.3 (53.0)	0.011
GGT, IU/ml	63.4 (87.9)	n.a.	226 (392)	144 (250)	<0.001
Bilirubin, $\mu$ mol/L	11.8 (5.24)	10.5 (4.38)	14.0 (10.9)	n.a.	0.065
Albumin, g/L	44.2 (5.15)	37.2 (2.55)	40.2 (5.27)	n.a.	<0.001
Ferritin, $\mu$ g/L	206 (221)	n.a.	267 (384)	440 (678)	0.152
TE, kPa	10.4 (5.66)	18.0 (9.09)	17.2 (20.6)	14.0 (8.04)	0.005
IQR TE	2.20 (0.64)	3.93 (3.64)	2.22 (3.27)	2.29 (1.66)	0.025
Fibrosis stage, n (%)					<0.001
F0	58 (57.4)	8 (32.0)	12 (6.03)	1 (3.70)	
F1	15 (14.9)	6 (24.0)	103 (51.8)	8 (29.6)	
F2	21 (20.8)	3 (12.0)	35 (17.6)	9 (33.3)	
F3	3 (2.97)	6 (24.0)	13 (6.53)	0	
F4	4 (3.96)	2 (8.00)	36 (18.1)	9 (33.3)	

Average values and standard deviations in brackets ( ), unless otherwise indicated. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; DM, diabetes mellitus; GGT, gamma-glutamyl transferase; TE, transient elastography. ES = Spanish cohorts 1&2; UK = British cohort; DK = Danish cohort.

**Table 3. Diagnostic yield CTREE model, 5-fold by 5-repeat cross-validation.**

	Fibrosis stage		
	F0-F1	F2-F3	F4
Prevalence	62.15%	24.92%	12.92%
Sensitivity	79.01%	54.54%	79.55%
Specificity	80.17%	83.56%	91.86%
PPV	85.63%	53.16%	62.50%
NPV	71.85%	84.30%	96.34%
Balanced accuracy	79.59%	69.05%	85.70%
Overall	Average	95% CI L	95% CI U
Accuracy	70.79%	68.86%	72.72%
$p$ (Accuracy > NIR)		$3.621 \times 10^{-7}$	

CTREE, conditional inference trees; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; Balanced accuracy = sensitivity + specificity/2.  $p$  (Accuracy > NIR):  $p$  value for testing accuracy larger than no information rate.

In cohorts with patients who had a history of hazardous alcohol use and/or metabolic syndrome (FR, DK and UK cohorts), a slightly higher optimal threshold for fibrosis staging was obtained: With LSM lower than 9.5 kPa, the probability of fibrosis stage  $\geq$ F2 was only 9.7%; with LSM higher than 9.5 kPa, the probability increased to 52.4% for this at-risk population.

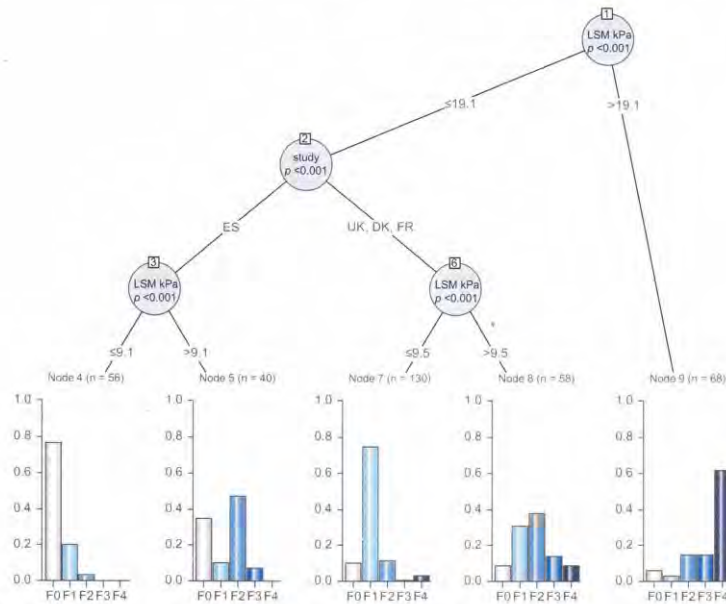
According to the developed predictive model, a total of 3.9% ( $n = 238$ ) of patients from general population samples were predicted to have  $\geq$ F2 fibrosis, whereas 28.8% ( $n = 157$ ) of at-risk

patients were predicted to have developed at least fibrosis stage F2.

Fig. 4 presents the detailed cut-off values alongside the tree structure and the distributions of fibrosis stages. The fibrosis CTREE had an average 5-fold 5-repeat cross-validated 3-class diagnostic balanced accuracy of 70.8% (95% CI 68.9–72.7%), i.e. compared to a random model, CTREE presented an increase of 30.7% ( $p < 0.001$ , accuracy > no information rate).

The other 2 serum surrogate fibrosis markers had the following 3-class accuracies: FIB-4 59.4% (95% CI 57.1–61.5%) and NFS 55.5% (95% CI 53.3–57.6%). Thus, compared to CTREE, FIB-4 and NFS had 11.4% and 15.3% lower accuracy, respectively (both  $p < 0.001$ ). The statistical supplementary information presents the distributions of these markers (Fig. S17–S18) alongside the comparative diagnostic performance (Fig. S19, S21–23), and the calibration plot across the models (Fig. S22).

Table 4 presents the NNS for each cohort and population sampling method. The average NNS to detect a patient with fibrosis stage  $\geq$ F2 by general population sampling was 34.5 individuals, compared to 8.5 for obese patients, 7.0 for patients with diabetes, and 12.5 for at-risk patients with alcohol consumption. However, caution must be taken in interpreting these numbers, given the population sampling heterogeneity across studies.



**Fig. 4. CTREE fibrosis staging for LSM thresholds with empirical distributions.** The first split of the algorithm,  $LSM > 19.1$  kPa (node 9,  $p < 0.001$ ) denotes a probability of the patient having a fibrosis stage 2–3–4 of 88% independently of the sampled population. For values below 19.1 kPa the next split is the study population ( $p < 0.001$ ). The algorithm automatically differentiates conditional on the unobserved characteristics of studies ES and FR&UK&DK. NAFLD and ALD populations are split. For NAFLD population an optimal LSM kPa threshold is identified at  $> 9.1$  kPa with a probability of being F2–F3 of 57.6%. For the ALD population the optimal threshold for detecting  $\geq$ F2 is identified at 9.5 kPa with a probability of 52.4%. ALD, alcohol-related liver disease; CTREE, conditional inference trees; LSM, liver stiffness measurement; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; TE, transient elastography; ES = Spanish cohorts 1&2; UK = British cohort; DK = Danish cohort; FR = French cohort.

Table 4. Number needed to screen by risk factor and country.

	General		Obese		Diabetic		Alcohol	
	NNS	95% CI	NNS	95% CI	NNS	95% CI	NNS	95% CI
ES	30.6	25.8–37.5	12.2	10.2–14.1	7.7	6.1–10.5	7.6	6.1–10.1
DE	52.0	21.9–139.6						
UK			2.7	2.2–3.6	3.9	3.1–5.0	5.5	4.5–7.3
DK							2.5	2.1–3.0
FR	29.1	22.6–40.8	10.7	7.6–17.7			21.9	16.4–32.9
HK	26.6	20.0–39.6	8.3	4.0–13.5	9.5	4.9–15.2	25.1	15.0–38.3
Average	34.5	22.6–64.4	8.5	6.0–12.2	7.0	4.7–10.2	12.5	8.8–18.3

ES = Spanish cohorts 1&2, DE = German cohort, UK = British cohort, DK = Danish cohort, FR = French cohort, HK = Hong Kong cohort.

Cost-effectiveness results

The optimal cut-offs defined in our set of biopsied patients were used to infer the predicted fibrosis prevalence rates in each of the heterogeneous cohorts. This real data was introduced into the economic model and given the assumptions of the cost-effectiveness model, we found that the mean ICER of the risk-stratification strategy with TE ranged from 2,570 €/QALY (95% CI 2,456–2,683) in Spain for a population at risk of ALD (age ≥45 years) to 6,217 €/QALY (95% CI 5,832–6,601) in the Hong Kong general population setting. While there were significant differences in the results across countries and targeted populations, all results were highly cost-effective below the one gross domestic product per capita/QALY threshold.

Fig. 5 presents the survival curves derived from the state-transition probabilities. The model estimates the difference in quality-adjusted survival between patients diagnosed and undiagnosed for each fibrosis stage. The area between diagnosed and undiagnosed curves is the average effectiveness in terms of QALYs of the screening program. Fig. 5 illustrates that, in terms of QALYs, patients benefit from being diagnosed at all stages, but this benefit is higher in stages ≥F2 compared to F0-1 or F4.

Fig. 6 presents the results of the sensitivity analyses in terms of cost-effectiveness acceptability curves depending upon patient selection either based on risk factors (obese, diabetes, alcohol) or in the general population setting by country. All targeted populations present an average probability of being cost saving of 12%, highlighting the potential savings associated with the intervention.

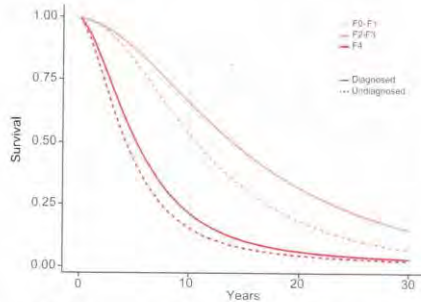


Fig. 5. Cost-effectiveness model survival estimates by fibrosis group and diagnostic arm. Survival estimates of fibrosis stage patients F0-F1, F2-F3 and F4 either diagnosed or undiagnosed. The area between diagnosed and undiagnosed curves is the average effectiveness in terms of survival of the screening program.

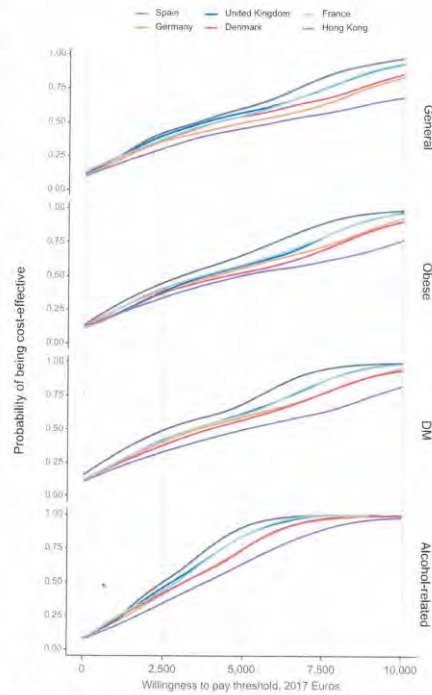


Fig. 6. Cost-effectiveness acceptability curves by country and targeted population, n = 1,000. The figure presents the probability of the screening intervention being cost-effective for a given willingness to pay level. The curves are estimated from the probabilistic sensitivity analysis. It is worth noting that all models have a baseline 12% probability of being cost saving. The upper panel shows the analysis for general population screening settings, the second for an obese population, the third for diabetes type 2, and the lowest panel shows the results for an alcoholic population.

With respect to ICER estimates across sampling strategies, obese or diabetic populations require 93.2% (95% CI 91.2–95.3%) and 85.6% (95% CI 83.7–87.4%) of resources, respectively, compared to the general population, to obtain the same value in terms of QALYs. Of note, in a population at risk of ALD, only 65.3% (95% CI 64.1–66.5%) of resources are needed in compar-



ison to general population screening, highlighting the efficiency and feasibility of targeted interventions, which are highly dependent on the prevalence in the targeted population.

### Discussion

The results of the present study demonstrate that non-invasive screening for liver fibrosis with TE among the general population, and among patients with risk factors for chronic liver disease, is cost effective. We have availed of individual data from 7 previous prospective studies that performed screening of liver fibrosis with TE in the general population and in patients with risk factors for chronic liver disease. In our study, data from the subset of patients who had undergone liver biopsy was used to define the diagnostic cut-offs for significant liver fibrosis. Having defined the best cut-offs, we applied them to our 6 different cohorts to assess the prevalence rates of significant fibrosis. This real-life data was then used to tune an economic model that compares 2 distinct pathways to detect significant fibrosis, *i.e.* the TE detection pathway compared to the standard of care pathway (based on increased serum liver enzyme activities). The rationale for using non-invasive fibrosis detection by TE as a public health intervention was to achieve earlier and more reliable patient identification, timely referral to specialist care, adequate treatment, and enrolment into surveillance programmes.

Our study shows that, irrespective of the targeted population, screening for liver fibrosis with optimized algorithms is a highly cost-effective public health intervention, with a 12% average probability of being cost saving. As might be expected, when we focus on patients with risk factors for chronic liver disease, including patients with diabetes, obesity or hazardous alcohol consumption, the screening program is even more cost effective. Differences across risk factor targeting represent cost reductions of around 8.3–48.9% to achieve the same value.

Liver fibrosis is, among all the histopathological changes that occur in chronic liver diseases, the major factor that predicts the long-term outcome of patients with chronic liver diseases. Fibrosis stage determines disease progression to cirrhosis and the development of liver-related complications and mortality, irrespective of the aetiology of the disease.<sup>30,31</sup> Liver fibrosis can regress if effective treatment to control or cure the underlying disease is implemented, which is more feasible at early stages.<sup>42,43</sup> Therefore, under the prism of public health strategies, the goal of a screening program should be the timely detection of patients with significant fibrosis or cirrhosis, at high risk of liver-related decompensation or death, in order to promote liver fibrosis regression and improve survival. In fact, our results confirm that a screening program based on the detection of liver fibrosis by TE is cost-effective, especially in early fibrosis stages  $\geq$ F2 and unsurprisingly somewhat less in patients with advanced liver disease ( $\geq$ F4).

In our study, we used TE as a non-invasive screening method to diagnose liver fibrosis. The efficacy of TE to detect liver fibrosis has been demonstrated during the past decade,<sup>44</sup> however, most studies have been performed in patients with already known chronic liver diseases, such as HBV or HCV infections and, lately, NAFLD.<sup>45</sup> Data to establish the best cut-offs for the diagnosis of fibrosis in the primary care setting are scarce.<sup>46</sup> In our study, the best cut-off for the diagnosis of significant fibrosis among patients from the general population was 9.1 kPa. Interestingly, the subset of patients with liver biopsy from the general population had a high prevalence of components of the metabolic syn-

drome, the majority were obese, and almost one-third presented with diabetes, known risk factors for NAFLD. Moreover, the predominant aetiology, according to liver biopsy, in this subset of patients was NAFLD. Therefore, we can presume that the best cut-off for the diagnosis of significant fibrosis in the context of patients with metabolic risk factors for NAFLD among the general population is 9.1 kPa. On the other hand, the cut-off for significant fibrosis among patients with high-risk alcohol consumption was slightly higher (9.5 kPa). However, for clinical practice we can assume that any value above 9–9.5 kPa may indicate the presence of significant liver fibrosis in patients with risk factors for NAFLD or ALD in the general population setting. Notwithstanding that the TE-based tree model appears to be the best calibrated model in comparison to serum biomarkers (FIB-4, NFS) in the biopsied patients, it is by no means perfect. The calibration plot across the 3 algorithms indicates the potential risk of underestimation at higher probabilities of events, when looking at significant fibrosis stages. Here, the impact on cost-effectiveness results comes in the form of a lower bound. This is analogous to faecal tests for colorectal cancer screening, which generally underestimate the probability of precancerous lesions, while at the same time reducing the number of necessary invasive tests. Future research in preventive hepatology should focus on the definition of such decision thresholds and their consequences in real-world settings.

One of the main strengths of our project is that it refines parameter tuning of the economic model for target populations and diagnostic accuracy in a wide set of populations and health-care systems. The cost-effectiveness analysis showed that the screening program targeting patients at risk of ALD and obese or diabetic populations is highly cost-effective. When implementing liver screening, we would need to invest between 2,500 (at-risk population) to 6,500 (general population) purchasing power parity-adjusted euros to gain an extra year of life, adjusted for quality of life. From a public health point of view, anything below one GDP per capita is deemed highly cost-effective.<sup>28</sup> One of the sensitive issues around the cost-effectiveness estimates is the cost structure of the testing. A constant marginal cost per test is assumed, whereas in real-world settings, amortization through usage and labour imputation might result in decreasing marginal cost, hence biasing upwards our cost estimates. Our data highlights the specific diagnostic and economic consequences of targeted populations for such a public health intervention in hepatology.

Although the implementation in itself is not the objective of this study, in public settings, budgetary impact and difficulties in provision of public services have to be considered, as observed in preventive screening interventions in other fields of medicine.<sup>46–52</sup> Interestingly, compared to screening in later stages of chronic liver disease for HCC,<sup>53</sup> screening for significant liver fibrosis ( $\geq$ F2) results in a 10-fold improvement in terms of efficiency, highlighting the relevance of early identification, referral, and surveillance of these patients. In the present scenario of a growing epidemic of NAFLD, the implementation of screening programs to detect the patients with significant fibrosis is essential. The implementation of TE in the primary care setting enables the involvement of community-based resources, including nurses and primary care physicians, to maximize the value of interventions.<sup>24</sup>

The current study has some limitations that should be acknowledged. First, only 5.5% of patients included in the analysis underwent liver biopsy. However, we performed analysis to

evaluate the potential sample selection bias and uncertainty around parameter estimates of the economic model, and both analyses were robust to exclude bias and uncertainty. Secondly, our economic model had several assumptions, mostly regarding care and cost structure, fibrosis progression rate, and treatment effectiveness. To account for the level of uncertainty associated with the estimates, probabilistic sensitivity analysis was performed for these parameters. Finally, it has been proposed that serum biomarkers should be used as a first step for liver fibrosis detection in the general population, leaving TE as a second step.<sup>10,16,44</sup> Our results show that TE performed better than serum biomarkers for fibrosis detection in terms of both discriminatory accuracy and calibration of observed by predicted diagnosis. Whether a 2-step approach using serum biomarkers followed by TE is more cost effective and cost saving in population screening should be tested in future studies.

In summary, a screening program for the detection of liver fibrosis, by transient elastography, at primary care centres is a highly cost-effective intervention and potentially cost saving. This screening approach could represent a valuable public health strategy in the era of NAFLD epidemics.

#### Financial support

EIT Health project 2018, project number EIT 18258; BMBF Liver Systems Medicine, project number LiSyM 031L005; the Danish study was funded by Innovation Fund Denmark, the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Program (grant agreement number 668031). This study was funded by a grant awarded to PG (PI16/00043), integrated in the Plan Nacional I + D + I and co-funded by ISCIII-Subdirección General de Evaluación and European Regional Development Fund FEDER.

#### Conflicts of interest

MS, IG, LC, MT, DR, WS, NG, NF, RH, GW, SM, AK, PA, AA, PT, LC and FL have no conflicts of interests. IG has received lecture fees from Gilead and Novartis. P. Ginès reports grants and personal fees from Grifols, grants and personal fees from Gilead, grants from Mallinckrodt, personal fees from Promethera, personal fees from Martin Pharmaceuticals, grants from Ferring Pharmaceuticals, grants and personal fees from Sequana. V. Wong has served as a consultant or advisory board member for AbbVie, Allergan, Echosens, Gilead Sciences, Janssen, Perspectum Diagnostics, Pfizer and Terns; he has also received lecture fees from Bristol-Myers Squibb, Echosens, Gilead Sciences and Merck.

Please refer to the accompanying ICMJE disclosure forms for further details.

#### Authors' contributions

MS: Study concept and design, analysis and interpretation of data, statistical analysis, and writing of manuscript; IG: Study concept and design, analysis and interpretation of data, statistical analysis, and writing of manuscript; PT: analysis and interpretation of data, critical revision of the manuscript for intellectual content; MT: writing of manuscript and critical revision of the manuscript for intellectual content; DR: critical revision of the manuscript for intellectual content; VW: critical revision of the manuscript for intellectual content; WS: critical revision of the manuscript for intellectual content; DH: critical revision of the manuscript for intellectual content; SDM: critical

revision of the manuscript for intellectual content; AK: critical revision of the manuscript for intellectual content; GP: critical revision of the manuscript for intellectual content; PA: critical revision of the manuscript for intellectual content; PG: critical revision of the manuscript for intellectual content; AG: critical revision of the manuscript for intellectual content; LC: critical revision of the manuscript for intellectual content; IC: critical revision of the manuscript for intellectual content; PGines: Study concept and design and critical revision of the manuscript for intellectual content; FL: Study concept and design, interpretation of data, writing of manuscript, and critical revision of the manuscript for intellectual content.

#### Acknowledgments

The LiverScreen Consortium is a group of institutions from Europe that have the objective of investigating population-based screening for chronic liver diseases. P. Ginès is a recipient of an ICREA Academia award.

#### Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.08.019>.

#### References

Author names in bold designate shared co-first authorship

- [1] **Loomba R, Sanyal AJ**. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:686–690. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.171>.
- [2] Williams R, Alexander G, Armstrong I, Baker A, Bhala N, Camps-Walsh G, et al. Disease burden and costs from excess alcohol consumption, obesity, and viral hepatitis: fourth report of the Lancet Standing Commission on Liver Disease in the UK. *Lancet (London, England)* 2018;391:1097–1107. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32866-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32866-0).
- [3] Cohen SM. Alcoholic liver disease. *Clin Liver Dis* 2016;20:xiii–xiv. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2016.05.001>.
- [4] **Louvet A, Mathurin P**. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015;12:231–242. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.35>.
- [5] European Association for the Study of the Liver, Electronic address: easloffice@easloffice.eu M, European Association for the Study of the Liver A, Lackner C, Mathurin P, Moreno C, Spahr L, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of alcohol-related liver disease. *J Hepatol* 2018;69:154–181. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.018>.
- [6] Jepsen P, Ott P, Andersen PK, Sørensen HT, Vilstrup H. Clinical course of alcoholic liver cirrhosis: a Danish population-based cohort study. *Hepatology* 2010;51:1675–1682. <https://doi.org/10.1002/hep.23500>.
- [7] Ginès P, Graupera I, Lammert F, Angeli P, Caballeria L, Krag A, et al. Screening for liver fibrosis in the general population: a call for action. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2016;1:256–260. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(16\)30081-4](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30081-4).
- [8] **Hagström H**, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, et al. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J Hepatol* 2017;67:1265–1273. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.07.027>.
- [9] Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Björnsson ES, Charatchoenwitthaya P, et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease 389–97.e10. *Gastroenterology* 2015;149. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.04.043>.
- [10] Tsochatzis EA, Newsome PN. Non-alcoholic fatty liver disease and the interface between primary and secondary care. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2018;3:509–517. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(18\)30077-3](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(18)30077-3).
- [11] Wong VW-S, Vergniol J, Wong GL-H, Foucher J, Chan HL-Y, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010;51:454–462. <https://doi.org/10.1002/hep.23312>.



- [12] Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol* 2008;48:835–847. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.02.008>.
- [13] Park CC, Nguyen P, Hernandez C, Bettencourt R, Ramirez K, Fortney L, et al. Magnetic resonance elastography vs transient elastography in detection of fibrosis and noninvasive measurement of steatosis in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease 598–607.e2. *Gastroenterology* 2017;152. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.10.026>.
- [14] Imajo K, Kessoku T, Honda Y, Tomeno W, Ogawa Y, Mawatari H, et al. Magnetic resonance imaging more accurately classifies steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease than transient elastography 626–637.e7. *Gastroenterology* 2016;150. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.11.048>.
- [15] Huwart L, Sempoux C, Vicaut E, Salameh N, Annet L, Danse E, et al. Magnetic resonance elastography for the noninvasive staging of liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008;135:32–40. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.03.076>.
- [16] Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive assessment of liver disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease 1264–1281.e4. *Gastroenterology* 2019;156. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.12.036>.
- [17] Harris R, Harman DJ, Card TR, Aithal GP, Guha IN. Prevalence of clinically significant liver disease within the general population, as defined by non-invasive markers of liver fibrosis: a systematic review. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017;2:288–297. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(16\)30205-9](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30205-9).
- [18] Boursier J, de Ledinghen V, Leroy V, Anty R, Francque S, Salmon D, et al. A stepwise algorithm using an at-a-glance first-line test for the non-invasive diagnosis of advanced liver fibrosis and cirrhosis. *J Hepatol* 2017;66:1158–1165. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.01.003>.
- [19] Stål P. Liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease—diagnostic challenge with prognostic significance. *World J Gastroenterol* 2015;21:11077–11087. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i39.11077>.
- [20] Boursier J, Vergniol J, Guillet A, Hiriart JB, Lannes A, Le Bail B, et al. Diagnostic accuracy and prognostic significance of blood fibrosis tests and liver stiffness measurement by FibroScan in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2016;65:570–578. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.04.023>.
- [21] Cassinotto C, Boursier J, de Ledinghen V, Lebigoit J, Lapuyade B, Cales P, et al. Liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: a comparison of supersonic shear imaging, FibroScan, and ARFI with liver biopsy. *Hepatology* 2016;63:1817–1827. <https://doi.org/10.1002/hep.28394>.
- [22] Karlas T, Petroff D, Sasso M, Fan J-G, Mi Y-Q, de Ledinghen V, et al. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J Hepatol* 2017;66:1022–1030. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.022>.
- [23] Roulot D, Costes J-L, Buyck J-F, Warzocha U, Gambier N, Czernichow S, et al. Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years. *Gut* 2011;60:977–984. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.221382>.
- [24] Caballería L, Pera G, Arteaga I, Rodríguez L, Alumà A, Morillas RM, et al. High prevalence of liver fibrosis among European adults with unknown liver disease: a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2017.12.048>.
- [25] Fabrellas N, Hernández R, Graupera I, Solà E, Ramos P, Martín N, et al. Prevalence of hepatic steatosis as assessed by controlled attenuation parameter (CAP) in subjects with metabolic risk factors in primary care. A population-based study. *PLoS One* 2018;13:e0200656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200656>.
- [26] Thiele M, Detlefsen S, Sevelsted Møller L, Madsen BS, Fuglsang Hansen J, Fiella AD, et al. Transient and 2-dimensional shear-wave elastography provide comparable assessment of alcoholic liver fibrosis and cirrhosis. *Gastroenterology* 2016;150:123–133. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.09.040>.
- [27] Harman DJ, Ryder SD, James MW, Jelpke M, Ottrey DS, Wilkes EA, et al. Direct targeting of risk factors significantly increases the detection of liver cirrhosis in primary care: a cross-sectional diagnostic study utilising transient elastography. *BMJ Open* 2015;5.
- [28] Arslanow A, Baum C, Lammert F, Stokes CS. Nichtinvasive Früherkennung von Lebererkrankungen im Rahmen der betrieblichen Gesundheitsförderung. *Zentralblatt Für Arbeitsmedizin, Arbeitsschutz Und Ergonomie* 2017;67:201–210. <https://doi.org/10.1007/s40864-017-0187-z>.
- [29] Wong VW-S, Chu WC-W, Wong GL-H, Chan RS-M, Chim AM-L, Ong A, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and advanced fibrosis in Hong Kong Chinese: a population study using proton-magnetic resonance spectroscopy and transient elastography. *Gut* 2012;61:409–415. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300342>.
- [30] Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313–1321. <https://doi.org/10.1002/hep.20701>.
- [31] Castera L, Vilgrain V, Angulo P. Noninvasive evaluation of NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:666. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.175>.
- [32] Hothorn T, Hornik K, Zeileis A. Unbiased recursive partitioning: a conditional inference framework. *J Comput Graph Stat* 2006;15:651–674. <https://doi.org/10.1198/106186006X133933>.
- [33] Holmes G, Pfahringer B, Kirby R. Multiclass Alternating Decision Trees. *Proc 13th Eur Conf Mach Learn (ECML '02)* 2002;2430:161–72. doi:10.1007/3-540-36755-1\_14.
- [34] Chawla NV, Bowyer KW, Hall LO, Kegelmeyer WP. SMOTE: Synthetic minority over-sampling technique. *J Artif Intell Res* 2002. <https://doi.org/10.1613/jair.953>.
- [35] Wang Y, Luangkesorn L, Shuman IJ. Best-subset selection procedure. *Proc Winter Simul Conf* 2011;4310–4318. <https://doi.org/10.1109/WSC.2011.6148118>.
- [36] R Core Team. *R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, A. R.: A language and environment for statistical computing. 2016. n.d.
- [37] Tanajewski L, Harris R, Harman DJ, Aithal GP, Card TR, Gkountouras G, et al. Economic evaluation of a community-based diagnostic pathway to stratify adults for non-alcoholic fatty liver disease: a Markov model informed by a feasibility study. *BMJ Open* 2017;7.
- [38] Marseille E, Larson B, Kazi DS, Kahn JC, Rosen S. Thresholds for the cost-effectiveness of interventions: alternative approaches. *Bull World Health Organ* 2015;93:118–124. <https://doi.org/10.2471/BLT.14.138206>.
- [39] West J, Card TR. Reduced mortality rates following elective percutaneous liver biopsies. *Gastroenterology* 2010;139:1230–1237. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.06.015>.
- [40] Wright D. Incremental Cost-Effectiveness Ratio (ICER). *York Heal Econ Consort* 2017. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4733.2004.75003.x.full>.
- [41] Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *The Lancet* 1997;349:825–832. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)07642-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)07642-8).
- [42] Marcellin P, Gane E, Buti M, Aldhal N, Sievert W, Jacobson IM, et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study. *Lancet (London, England)* 2013;381:468–475. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61425-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61425-1).
- [43] Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, et al. Impact of pegylated interferon alpha-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002;122:1303–1313. <https://doi.org/10.1053/j.gast.2002.33073>.
- [44] Wong VW-S, Adams LA, de Ledinghen V, Wong GL-H, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH – current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018;15:461–478. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0014-9>.
- [45] Friedrich-Rust M, Poynard T, Castera L. Critical comparison of elastography methods to assess chronic liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016;13:402.
- [46] Kim JJ, Leung GM, Woo PPS, Goldie SJ. Cost-effectiveness of organized versus opportunistic cervical cytology screening in Hong Kong. *J Public Health (Bangkok)* 2004;26:130–137. <https://doi.org/10.1093/pubmed/ldh138>.
- [47] Black WC, Gareen IF, Soneji SS, Sicks JD, Keeler EB, Aberle DR, et al. Cost-effectiveness of CT screening in the national lung screening trial. *N Engl J Med* 2014;371:1793–1802. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1312547>.
- [48] Gorin SS, Gauthier J, Hay J, Miles A, Wardle J. Cancer screening and aging: research barriers and opportunities. *Cancer* 2008;113:3493–3504. <https://doi.org/10.1002/cncr.23938>.
- [49] Brouwers MC, De Vito C, Bahirathan L, Carol A, Carroll JC, Cotterchio M, et al. What implementation interventions increase cancer screening rates? A systematic review. *Implement Sci* 2011;6:111. <https://doi.org/10.1186/1748-5908-6-111>.
- [50] Carter-Harris L, Gould MK. Multilevel barriers to the successful implementation of lung cancer screening: why does it have to be so hard? *Ann Am Thorac Soc* 2017;14:1261–1265. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201703-204P5>.
- [51] Minniear TD, Gilmore B, Arnold SR, Flynn PM, Knapp KM, Gaur AH. Implementation of and barriers to routine HIV screening for adolescents. *Pediatrics* 2009;124:1076–1084. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-0237>.

- [52] Miller AB. Implementation of colon cancer screening: techniques, costs, and barriers. *Gastroenterol Clin North Am* 2008;37:83-95. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2007.12.015>.
- [53] Kuo MJ, Chen HH, Chen CL, Fann JCY, Chen SLS, Chiu SYH, et al. Cost-effectiveness analysis of population-based screening of hepatocellular

carcinoma: Comparing ultrasonography with two-stage screening. *World J Gastroenterol* 2016;22:3460-3470. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i12.3460>.





