

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

**“EVALUACION DE INDICES DE FIBROSIS NO INVASIVOS EN PACIENTES MEXICANOS
CON HEPATITIS CRÓNICA DE ETIOLOGÍA VIRAL”**

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE**

GASTROENTEROLOGIA

P R E S E N T A

DRA. BRENDA ARACELY HERRERA CHI

ASESOR DE TESIS
DRA. NAYELI ORTIZ OLVERA

MEXICO, D.F. FEBRERO 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DRA. DIANA G. MENEZ DIAZ
JEFE DE DIVISIÓN DE EDUCACION EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR. BERNARDO SEPÚLVEDA GUTIÉRREZ” CMN SIGLO
XXI

ASESOR DE TESIS

DRA. NAYELI XOCHIQETZAL ORTIZ OLVERA
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE GASTROENTEROLOGÍA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO SXXI

DRA. MARGARITA DEHESA VIOLANTE
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE GASTROENTEROLOGÍA
PROFESOR DEL CURSO DE GASTROENTEROLOGÍA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MÉDICO NACIONAL SXXI



REGISTRO NACIONAL DE TESIS DE ESPECIALIDAD

Delegación: SUR DEL DISTRITO FEDERAL Unidad de adscripción: UMAE HE CMN SXXI

Autor:

Apellido:

Paterno:

HERRERA

Materno: CHI

Nombre: BRENDA ARACELY

Matrícula: 99332491 Especialidad: GASTROENTEROLOGÍA Fecha Grad. 28 / 02 / 2009

Asesor:

Apellido:

Paterno:

ORTIZ

Materno

OLVER A

Nombre:

NAYELI

Matrícula: 99375202 Especialidad: GASTROENTEROLOGÍA Registro: R2008-3601-10

Título de la tesis:

EVALUACION DE INDICES DE FIBROSIS NO INVASIVOS EN PACIENTES MEXICANOS CON HEPATITIS CRÓNICA DE ETIOLOGÍA VIRAL

Resumen:

INTRODUCCIÓN: Las hepatitis virales crónicas son una de las enfermedades más frecuentes a nivel mundial. El conocimiento de la fibrosis hepática (FH) es fundamental para valorar el pronóstico de la enfermedad y la necesidad de tratamiento. La evaluación histológica se ha considerado como el "estándar de oro" a este respecto, sin embargo es un procedimiento invasivo, costoso, asociado con morbi-mortalidad y presenta limitaciones como variabilidad intra e interobservador y el error de muestreo, con la posibilidad de pasar inadvertida la cirrosis. Actualmente existen otros métodos no invasivos que son capaces de medir el grado de fibrosis y estadio de la enfermedad hepática. Los marcadores no invasivos de FH se categorizan como pruebas serológicas (APRI o índice de la relación AST/plaquetas, índice de Forns, índice de fibrosis o fibrotest, ácido hialurónico, colágeno tipo IV, etc) y no serológicas (pruebas en aliento y radiológicas). El APRI es una prueba simple y segura para excluir pacientes con y sin fibrosis significativa (VPN 86% y 98% y VPP 88% y 57%, respectivamente). El índice de Forns logra identificar a pacientes sin fibrosis significativa con una seguridad diagnóstica alta (VPN 96%).

OBJETIVO: Evaluar la sensibilidad y especificidad de los índices de fibrosis no invasivos en población mexicana con diagnóstico de hepatitis crónica de etiología viral.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio transversal. Se incluirán todos los pacientes con diagnóstico clínico de hepatitis crónica de etiología viral, mayores de 18 años, que requirieron de biopsia hepática. Se excluirán aquellos pacientes que hayan recibido o estén recibiendo tratamiento antiviral, enfermedades grave concomitantes, mujeres embarazadas o lactando y trasplantados hepático.

Análisis Estadístico: Los resultados se expresarán en promedios $\pm$ desviaciones estándar y porcentajes. Se realizarán curvas de características operativas para el receptor (curva COR) y el diagnóstico de fibrosis establecido de acuerdo a la escala de Knodell

RESULTADOS: se incluyeron 119 pacientes (48.73% mujeres, 51.26% hombres). La edad promedio fue de 44.12 (± 12.26). En ambos grupos se documentó sobrepeso (mujeres 28.28/ hombres 26.65). La etiología más frecuente fue la infección por virus C en el 88.23% de los pacientes (57 mujeres/48 hombres). Se observó un mayor nivel de aminotransferasas y GGT en los pacientes con VHC en relación a los pacientes con VHB (ALT 105.79 en VHC vs 83.28 en VHB; AST 83.90 en VHC vs 50.21 VHB; GGT 95.72 en VHC vs 69.14 en VHB). La biopsia hepática detectó algún grado de fibrosis en el 46.21% de los pacientes y cirrosis en el 6.72%. El área bajo la curva (ABC) para el índice de Forns en F0-F1 es de 0.59 (IC 95%, 45.7-73.4) y para el APRI 0.57 (IC 95%, 43.7-70.7). El ABC del índice de Forns para F3-F4 es 0.64 (IC 95%, 49.7-78.4), y para el APRI 0.54 (IC 95%, 40.3-68.7)

CONCLUSIONES: Nuestro estudio mostró que estos modelos no evitan la necesidad de biopsias hepáticas. Más de la mitad de los pacientes no pueden ser clasificados apropiadamente y la S es muy baja. Aun faltan estudios en los que se defina de forma precisa si el empleo solo o combinado de índices de fibrosis predice la progresión de la enfermedad, la posibilidad de complicaciones y la eficacia de la terapia.

Palabras Clave:

1) FIBROSIS

2) VIRUS C

3)

4)

5)

Pags. 30

Ilus. 5

(Anotar el número real de páginas en el rubro correspondiente sin las dedicatorias ni portada)

Para ser llenado por el jefe de Educación en Salud

Tipo de Investigación:

Tipo de Diseño:

Tipo de Estudio:

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

A mis papás Juan Manuel Herrera Campos y Maria Eugenia Chi Herrera, por educarme con amor y sabiduría.

A mi hermana Berenice, por acompañarme en el camino de la vida.

Por estar conmigo, apoyarme y comprenderme gracias Axel.

A mis amigos de residencia por compartir momentos invaluableles.

A los pacientes.

A mis maestros, profesores titulares, que han aportado sus enseñanzas para hacer de mí lo que hoy he logrado....

Gracias.....

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
Planteamiento del Problema	
Justificación	6
Hipótesis	7
Objetivo	8
Universo de trabajo	9
Población de estudio	
Criterios de selección	9
Criterios de inclusión	9
Criterios de exclusión	9
Criterios de eliminación	10
Técnicas de recolección de la información	
Evaluación inicial	10
Evaluación clínica	10
Muestra de sangre para estudio bioquímico	10
USG abdominal	11
Biopsia hepática	11
Histología	11
Diseño del estudio	12
Análisis estadístico	12
Ética	12
Resultados	13
Discusión	19
Conclusiones	21
Referencias	22
Anexos	26

EVALUACION DE INDICES DE FIBROSIS NO INVASIVOS EN PACIENTES MEXICANOS CON HEPATITIS CRÓNICA DE ETIOLOGÍA VIRAL

Introducción: Las hepatitis virales crónicas son una de las enfermedades más frecuentes a nivel mundial. El conocimiento de la fibrosis hepática (FH) es fundamental para valorar el pronóstico de la enfermedad y la necesidad de tratamiento. La evaluación histológica se ha considerado como el “estándar de oro” a este respecto, sin embargo es un procedimiento invasivo, costoso, asociado con morbi-mortalidad y presenta limitaciones como variabilidad intra e interobservador y el error de muestreo, con la posibilidad de pasar inadvertida la cirrosis. Actualmente existen otros métodos no invasivos que son capaces de medir el grado de fibrosis y estadio de la enfermedad hepática. Los marcadores no invasivos de FH se categorizan como pruebas serológicas (APRI o índice de la relación AST/plaquetas, índice de Forns, índice de fibrosis o fibrotest, ácido hialurónico, colágena tipo IV, etc) y no serológicas (pruebas en aliento y radiológicas). El APRI es una prueba simple y segura para excluir pacientes con y sin fibrosis significativa (VPN 86% y 98% y VPP 88% y 57%, respectivamente). El Índice de Forns logra identificar a pacientes sin fibrosis significativa con una seguridad diagnóstica alta (VPN 96%).

Objetivo: Evaluar la sensibilidad y especificidad de los índices de fibrosis no invasivos en población mexicana con diagnóstico de hepatitis crónica de etiología viral.

Material y Métodos: Estudio transversal. Se incluirán todos los acientes con diagnóstico clínico de hepatitis crónica de etiología viral, mayores de 18 años, que requirieron de biopsia hepática. Se excluirán aquellos pacientes que hayan recibido o estén recibiendo tratamiento antiviral, enfermedades grave concomitantes, mujeres embarazadas o lactando y trasplantados hepático.

Análisis Estadístico: Los resultados se expresarán en promedios $\pm$ desviaciones estándar y porcentajes. Se realizaran curvas de características operativas para el receptor (curva COR) y el diagnóstico de fibrosis establecido de acuerdo a la escala de Knodell

Resultados: se incluyeron 119 pacientes (48.73% mujeres, 51.26% hombres). La edad promedio fue de 44.12 (± 12.26). En ambos grupos se documento sobrepeso (mujeres 28.28/ hombres 26.65). La etiología más frecuente fue la infección por virus C en el 88.23% de los pacientes (57 mujeres/48 hombres). Se observó un mayor nivel de aminotransferasas y GGT en los pacientes con VHC en relación a los pacientes con VHB (ALT 105.79 en VHC vs 83.28 en VHB; AST 83.90 en VHC vs 50.21 VHB; GGT 95.72 en VHC vs 69.14 en VHB). La biopsia hepática detectó algún grado de fibrosis en el 46.21% de los pacientes y cirrosis en el 6.72%. El área bajo la curva (ABC) para el índice de Forns en F0-F1 es de 0.59 (IC 95%, 45.7-73.4) y para el APRI 0.57 (IC 95%, 43.7-70.7). El ABC del índice de Forns para F3-F4 es 0.64 (IC 95%, 49.7-78.4), y para el APRI 0.54 (IC 95%, 40.3-68.7)

Conclusiones: Nuestro estudio mostró que estos modelos no evitan la necesidad de biopsias hepáticas. Más de la mitad de los pacientes no pueden ser clasificados apropiadamente y la S es muy baja. Aun faltan estudios en los que se defina de forma precisa si el empleo solo o combinado de índices de fibrosis predice la progresión de la enfermedad, la posibilidad de complicaciones y la eficacia de la terapia.

Hipótesis

Las pruebas no invasivas para el diagnóstico de fibrosis en hepatitis crónica de etiología viral tiene una sensibilidad de 80% y especificidad de 90%.

Las hepatitis virales crónicas son una de las enfermedades más frecuentes a nivel mundial, afectan a millones de sujetos y son una causa seria de morbi-mortalidad.(1-2). El conocimiento de la presencia de fibrosis hepática (FH) es fundamental para valorar el pronóstico de la enfermedad y, por tanto, la necesidad de tratamiento, debido a que la progresión de fibrosis hacia cirrosis es una característica de casi todas las enfermedades hepáticas crónicas. (3).

Se estima que el grado de FH es uno de los parámetros más importante en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad hepática crónica (EHC). La evaluación histológica se ha considerado como el “estándar de oro” a este respecto, ya que puede informarnos del estadio de fibrosis, conocer el grado de actividad necroinflamatoria, la presencia y cuantía de esteatosis hepática y datos histológicos implicados en la tasa de progresión de la fibrosis (4)

Desde la primera biopsia hepática percutánea, descrita en 1923, éste procedimiento se realiza rutinariamente para el diagnóstico y estadificación de las enfermedades del hígado. Es un procedimiento invasivo, costoso, y se asocia con morbi-mortalidad (1.0% y 0.1-0.01%, respectivamente). También, se han descrito algunas limitaciones del procedimiento como la variabilidad intra e interobservador y el error de muestreo, con la posibilidad de pasar inadvertida la cirrosis (5-6). Sin embargo, la evolución cada vez más sofisticada de pruebas diagnósticas serológicas y radiológicas, en décadas pasadas, dan como resultado una disminución paralela en su utilidad como herramienta diagnóstica.

Actualmente se ha considerado que la biopsia hepática no es el único método para determinar el grado de fibrosis, existen otros métodos no invasivos que son capaces de medir el grado de fibrosis y estadio de la enfermedad hepática (7). Los parámetros bioquímicos utilizados en el cálculo de la fibrosis hepática se pueden clasificar en 4 tipos: *a)* marcadores de función hepática como el tiempo de protrombina, plaquetas, macroglobulina y haptoglobina; *b)* marcadores de fibrogénesis como el péptido *procolágena*-III, ácido hialurónico o el YKL-40; *c)* marcadores de daño hepático como gammaglutamiltranspeptidasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA) y el cociente aspartato aminotransferasa (AST)/alanino aminotransferasa (ALT), y *d)* marcadores inespecíficos como las cifras de colesterol.

Recientemente, existe un interés renovado en este tipo de marcadores no invasivos debido al desarrollo de las nuevas terapias para la hepatitis B y C. (2)

Los marcadores no invasivos de FH se categorizan como pruebas serológicas (APRI o índice de la relación AST/plaquetas, índice de Forns, índice de fibrosis o fibrotest, ácido hialurónico, colágena tipo IV, etc) y no serológicas (pruebas en aliento y radiológicas). Las pruebas serológicas se subdividen en indirectas y directas. Los marcadores indirectos de fibrosis hepática usualmente reflejan cambios en la función hepática pero no FH e incluyen, pero no se limita a, pruebas de laboratorio (aminotransferasas, bilirrubinas, conteo de plaquetas y estudios de coagulación). Los marcadores directos evalúan el movimiento de la matriz extracelular hepática (MEC), y su uso ha incrementado al conocer mejor los cambios moleculares de la fibrosis [ácido hialurónico, colagena-IV, péptido aminoterminal procolagena-III (PIIINP), péptido C y N procolagena-IV, matriz metaloproteinasa (MMP), inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP), etc.] (8).

Se ha descrito que la fibrosis hepática ocurre por un desequilibrio entre la degradación y la síntesis de la MEC, por activación de las células estelares; sin embargo, actualmente no existe un marcador hepático específico que refleje con exactitud la fibrosis en las enfermedades hepáticas de diversa etiología, aun cuando se han estudiado numerosos marcadores serológicos, productos de degradación de la matriz, ya sea de manera individual o combinados. (9)

El marcador de fibrosis ideal es aquel considerado económico, fácilmente disponible, simple, reproducible, específico y capaz de distinguir entre ausencia de fibrosis, fibrosis incipiente y fibrosis/cirrosis intermedia y avanzada; y escasamente influenciado por la secreción biliar o renal, así como correlacionar con los cambios dinámicos de fibrogénesis y fibrolisis. (10)

Poynard y cols, desarrollaron un índice de fibrosis (fibrotest), el cual inicialmente fue utilizado en pacientes con hepatitis crónica por virus C (VHC), y demostraron que puede predecir de una manera significativa el grado de fibrosis de acuerdo a la escala METAVIR (escala histológica sobre el índice de actividad inflamatoria y fibrosis), con valores predictivos negativo y positivo mayor al 90%. (5)

El APRI o Índice de la relación $[AST/(\text{limite superior normal}) \times 100]/\text{plaquetas}$ ($10^9/L$), fue descrito por Wai y cols (11) en pacientes con hepatitis crónica por VHC, virgen a tratamiento. Los autores reportaron que es una prueba simple y segura para excluir

pacientes con y sin fibrosis significativa (VPN 86% y 98% y VPP 88% y 57%, respectivamente).

El Índice de Forns es un sistema de puntaje que combina edad, GGT, colesterol y conteo de plaquetas, que logra identificar a pacientes sin fibrosis significativa con una seguridad diagnóstica alta (VPN 96%) (12).

El fibrotest o índice de fibrosis utiliza cinco marcadores séricos de fibrosis: *alfa*-2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina total, *gamma*-glutamyl-transpeptidasa, ajustándose a la edad y género de los sujetos (5).

De modo particular y comparado con otros índices no invasivos, el Fibrotest ha demostrado tener el mejor valor predictivo positivo (hasta un 90%) y una seguridad diagnóstica adecuada (86.1%) (1).

Posteriormente, se han realizado otros estudios, prospectivos y multicéntricos, para determinar la precisión y exactitud del diagnóstico de fibrosis en las enfermedades hepáticas crónicas, mediante el empleo de marcadores serológicos, ya sea de manera individual o combinados (13). Cales y cols, reportaron una similitud en predecir con exactitud la fibrosis en hepatitis de origen viral (sobre todo en pacientes con virus C genotipo 1) y las alcohólicas (14).

En estudios realizados recientemente, se ha comparado el fibrotest con pruebas más sencillas como el Índice de Forns y APRI, y fibrotest reportó un valor predictivo negativo alto en pacientes con hepatitis crónica por VHC y en coinfección con virus de inmunodeficiencia humana (15-16).

Desde septiembre 2002, el fibrotest se ha propuesto como una alternativa no invasiva a la biopsia hepática en pacientes con hepatitis crónica por VHC (17).

El análisis de imágenes obtenidas por ultrasonografía-elastografía, ultrasonido doppler, tomografía axial computada y resonancia magnética, han sido utilizadas de manera exitosa en cirrosis, con alta especificidad en presencia de esplenomegalia o varices, pero la seguridad diagnóstica disminuye cuando se utilizan para detectar estadios menos avanzados de fibrosis (18). Asimismo, requieren de validación externa para confirmar el diagnóstico. Recientemente, se ha reportado que el análisis digital óptico de imágenes por tomografía del hígado, utilizando un tomógrafo de imagen convencional sin medio de contraste y utilizando un análisis de histograma

con transformación de Fourier, ha demostrado ser efectivo para determinar el estadio y distribución de la fibrosis hepática en hepatitis crónicas por VHC (19).

La prueba en aliento- ^{13}C utilizando diferentes sustratos (fenilalanina, galactosa, cafeína, sorbitol y metacetina) ha probado ser una prueba segura para predecir cirrosis y mortalidad. Recientemente se ha enfatizado que la prueba con metacetina- ^{13}C evalúa el tejido hepático funcional, y el resultado de la prueba correlaciona con la escala de Child-Pugh. Se ha reportado como una prueba no invasiva, confiable y segura para predecir la severidad de la fibrosis (20).

JUSTIFICACIÓN

Uno de los cambios histológicos más característicos de la hepatopatía inflamatoria crónica es la fibrosis. La fibrosis hepática es un proceso complejo, dinámico y refleja la falta de balance entre la síntesis de MEC y su degradación, con acumulo de una cantidad excesiva de MEC. La FH tiene importantes repercusiones fisiopatológicas, lo cual hace imperativo su diagnóstico. Sin duda alguna, la biopsia hepática es el método más fiel para reconocer la presencia de fibrosis y determinar su distribución; sin embargo, su utilidad como herramienta diagnóstica ha disminuido debido a que se acompaña de morbi-mortalidad, y al desarrollo de pruebas no invasivas confiables y seguras para predecir fibrosis.

Los Índices de fibrosis no invasivos, como el APRI ha sido empleado en largas cohortes en donde se han evaluado pacientes con virus C, demostrando su alta predicción de cirrosis (área bajo la curva de 0.77-0.94), con una sensibilidad del 29.7% y especificidad 93.8%, siendo éste método fácilmente reproducible, pues los parámetros a evaluar son los solicitados de manera rutinaria en pacientes con hepatopatía crónica. Asimismo, otro modelo que ha demostrado su seguridad en cuanto a predicción de fibrosis es el creado por Forns y colaboradores, pues permite descartar fibrosis significativa hasta en un 96% de los pacientes, con una sensibilidad del 24.3% y especificidad del 98.3%, sin embargo la desventaja para su práctica rutinaria es la complejidad de su fórmula.

El fibrotest reporta una sensibilidad 75% y especificidad 85% para el diagnóstico de fibrosis significativa (F2 o más) en pacientes con hepatitis crónica por VHC y en pacientes con enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) donde la sensibilidad es del 77% para fibrosis avanzada. Asimismo, el análisis digital óptico de imágenes por tomografía del hígado y la prueba en aliento con metacetina- ^{13}C , han demostrado ser confiables y seguras para el diagnóstico de fibrosis en pacientes con hepatitis crónicas VHC.

En este estudio se propone evaluar los índices de fibrosis no invasivos en la población mexicana con hepatitis crónica de etiología viral.

Hipótesis

Las pruebas no invasivas para el diagnóstico de fibrosis en hepatitis crónica de etiología viral tiene una sensibilidad de 80% y especificidad de 90%.

Objetivo General

Evaluar la sensibilidad y especificidad de los índices de fibrosis no invasivos en población mexicana con diagnóstico de hepatitis crónica de etiología viral.

Universo de Trabajo

Se evaluaron los pacientes que acudieron al Servicio de Gastroenterología y Clínica de Hepatitis, del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, referidos entre 1997 y 2008 de las unidades de primer, segundo y tercer nivel de atención, y banco de sangre, por diagnóstico de hepatitis crónica de etiología viral (VHB y VHC).

El muestreo se realizó mediante una selección no probabilística de casos consecutivos, se incluyeron todos los pacientes derechohabientes del IMSS que acudieron al servicio de Gastroenterología, que cumplieron con los criterios de selección y aceptaron participar en el estudio, firmando la carta de consentimiento informado.

Criterios de selección

Pacientes con diagnóstico clínico de hepatitis crónica de etiología viral que requirieron de biopsia hepática, y aceptaron por escrito participar en el estudio.

Criterios de inclusión

- 1.- Pacientes mayores de 18 años.
- 2.- Hombres y mujeres
- 3.- Aceptación por escrito de participar en el estudio

Criterios de exclusión

- 1.- Pacientes que hayan recibido tratamiento antiviral previamente.
- 2.- Pacientes en tratamiento antiviral actual.
- 3.- Pacientes con enfermedades graves concomitantes del sistema cardiovascular, renal o enfermedades malignas de cualquier origen y alteraciones en la coagulación.
- 4.- Mujeres embarazadas o lactando.
- 5.- Pacientes con antecedentes de trasplante hepático.

Criterios de eliminación

1.- Se eliminaron del análisis a los pacientes que no contaban con alguna de las pruebas diagnósticas al final del estudio.

Realización del estudio

Evaluación Inicial

Los pacientes con diagnóstico de hepatitis crónica de etiología viral y que cumplieron con los criterios de inclusión fueron evaluados por el Gastroenterólogo, y se sometieron a los siguientes procedimientos:

- a) Evaluación clínica completa, Anexo 1, (factores demográficos, factores de riesgo y estado virológico actual).
- b) Estudio bioquímico: AST, ALT, FA, GGT, BT, BD, BI, plaquetas, TP, proteínas totales, albúmina sérica, colesterol, triglicéridos, perfil tiroideo, biometría hemática completa, glucosa, urea, creatinina, sodio, potasio, cloro y alfa-fetoproteína.
- c) Ultrasonido abdominal (antes de la biopsia hepática).
- d) Biopsia hepática

Evaluación clínica

Se aplicó a cada paciente el formato de historia clínica (HC), el cual fue aplicado por el investigador responsable. Los datos recolectados de la HC se vaciaron en una base de datos, Anexo 1.

Muestra de sangre para estudio bioquímico

El día de la biopsia hepática se tomó una muestra de sangre (20ml) a cada sujeto en ayuno. Dos muestras de sangre de 5ml fueron colectadas en tubos heparinizados para medir parámetros de biometría hemática y tiempos de coagulación. Dos muestras de sangre de 5 ml fueron colectados en tubos no heparinizados para obtener suero y determinar las pruebas de función hepática, química sanguínea y electrolitos séricos. Las muestras se procesaron en base a la rutina utilizada por el laboratorio central del Hospital de Especialidades CMN SXXI y los resultados se reportaron en el término de 24hr.

Ultrasonido abdominal

A cada paciente se le realizó ultrasonido abdominal, previo a la biopsia hepática utilizando un equipo Phillips. El paciente se colocó en posición decúbito dorsal, y se procedió a revisar el hígado y la vía biliar en su totalidad, en inspiración profunda y en dos planos, comenzando con un corte sagital, teniendo como límite inferior la vena cava inferior. Posteriormente se examinó el lóbulo izquierdo del hígado y después de una pausa respiratoria el lóbulo derecho. El examen de la vesícula biliar se realizó en el margen inferior del hígado. Para determinar el tamaño hepático se midió el diámetro craneocaudal y ventrodorsal en la línea medio claviclar derecha (21). Se realizó marcaje del sitio donde se tomó la biopsia. La biopsia se realizó con base a las recomendaciones de la guía práctica de la biopsia hepática. (22)

Biopsia hepática

Se realizó la biopsia hepática percutánea por vía transtorácica en todos los casos. El paciente se colocó en decúbito, el borde del hígado se definió por percusión, y sobre el sitio previamente marcado por ultrasonido abdominal se localizó el espacio intercostal sobre el cual se incidió, en el borde inferior del espacio intercostal (8° - 9°). Se avanzó la aguja de corte (tru-cut) y con pistola automática se realizó el corte (Bard®), previa infiltración con 5-10 ml de lidocaína simple al 2%, estando el paciente en espiración completa. Tras la biopsia, el paciente reposó sobre su lado derecho durante 6 horas y se monitorizó el pulso y la presión arterial posbiopsia cada 30 minutos las primeras 2 hr y cada hora las siguientes 3 hr durante su vigilancia. Las muestras se fijaron inmediatamente en formalina y fueron enviadas al servicio de anatomía patológica para estudio histopatológico.

Histología

El tejido hepático obtenido por punción se fijó en solución de formalina al 10% durante al menos dos horas y se procesaron bajo la técnica habitual, para finalmente teñirlas con Hematoxilina-eosina, PAS con diastasa (Ácido peryódico de Schiff) y tricrómico de Masson (23). Las biopsias se asignaron a un patólogo experto en hígado para su evaluación, sin conocer el resultado de las pruebas serológicas. Se empleó la escala de Knodell para diagnóstico de fibrosis. La fibrosis fue graduada en una escala del 0-4: F0= no fibrosis; F1= expansión portal fibrosa; F3= puentes de fibrosis; F4= cirrosis.

Para evaluar la calidad de la biopsia hepática se utilizaron los criterios de Regev (longitud ≥ 15 mm, 5 o más espacios porta, y un solo fragmento (referencia). Una biopsia entre 10 y 15 mm de longitud, con menos de 5 espacios porta o fragmentada se consideró como biopsia de “calidad regular”; una biopsia de “mala calidad” si es menor a 10 mm de longitud.

Diseño del estudio

Estudio transversal. Es un estudio para evaluar una prueba diagnóstica.

Análisis estadístico

Las características demográficas de los pacientes se describen en términos de promedios ($\pm$ DE), mediana (rangos) y proporciones (porcentajes). Se calculó sensibilidad (SE), especificidad (ES), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), razón de verosimilitud positiva y negativa e intervalos de confianza de 95% (IC 95%) de los índices de fibrosis no invasivos, en relación al estándar de oro (biopsia hepática).

Se realizaron curvas de características operativas para el receptor (curva COR) y el diagnóstico de fibrosis establecido de acuerdo a la escala de Knodell. El punto de corte óptimo de los índices se define como el punto con la mayor sensibilidad, especificidad y certeza diagnóstica para identificar a los pacientes con y sin fibrosis.

Para establecer el diagnóstico de fibrosis hepática, se considerará el resultado del Knodell (escala histológica sobre fibrosis).

Ética.

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, título segundo, capítulo uno, artículo 17, fracción: investigación con riesgo mayor que el mínimo. El proyecto fue aprobado por el comité de investigación y ética del Hospital de Especialidades, del centro Médico nacional Siglo XXI, R-2008-3601-10. Se contó con el consentimiento informado de cada uno de los pacientes del grupo de estudio (Anexo 2 y 3).

Resultados

Se evaluaron 178 pacientes de la clínica de hepatitis, con diagnóstico de hepatitis crónica de etiología viral (virus B y C), a quienes se les realizó biopsia hepática entre enero 1997 y diciembre 2008. Del total de pacientes incluidos, se eliminaron 59, por no contar con estudios bioquímicos completos, reporte de biopsia hepática, o que perdieron seguimiento en la clínica de hepatitis. De los 119 pacientes que comprendieron la muestra final, observamos que la distribución por género fue homogénea (48.73% mujeres, 51.26% hombres). La edad promedio fue de 44.12 (± 12.26). Las características generales de los pacientes se muestran en la **tabla 1**.

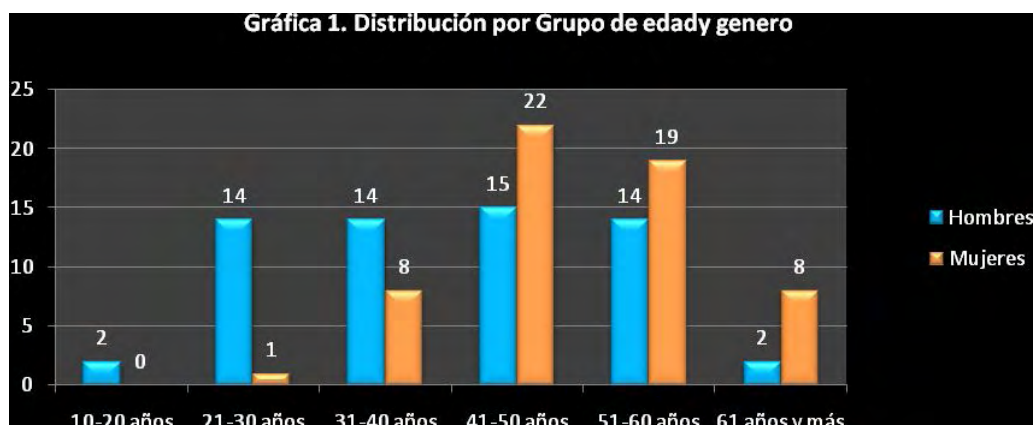
Tabla 1. Características generales de la población.

	N (%) 119 (100)	Mujeres N (%) 58 (48.73)	Hombres N (%) 61 (51.26)
Edad, promedio ($\pm$ DE)	44.12 (± 12.26)	48.43 (21-76)	39.86 (17-65)
IMC, promedio ($\pm$ DE)	27.21 (17.68-40.17)	28.28 (21.09-40.17)	26.65 (17.68-40)
Etiología			
VHC	105(88.23)	57 (98)	48(79)
VHB	14(11.76)	1(2)	13(21)
DM2	10(8.40)	4(7)	6(10)
Transfusiones	55(46)	30(52)	25(41)
Ingesta de alcohol	51(43)	18(31)	33(54)
Child.Pugh A	3(2.5)	1(2)	2(3.)
B	0	0	0
C	0	0	0
Hipertensión portal			
Hemorrágica	0	0	0
No hemorrágica	2(2)	1(2)	1(2)
Ascitis	3(2.5)	1(2)	2(3)
Encefalopatía	1(1)	1(2)	0

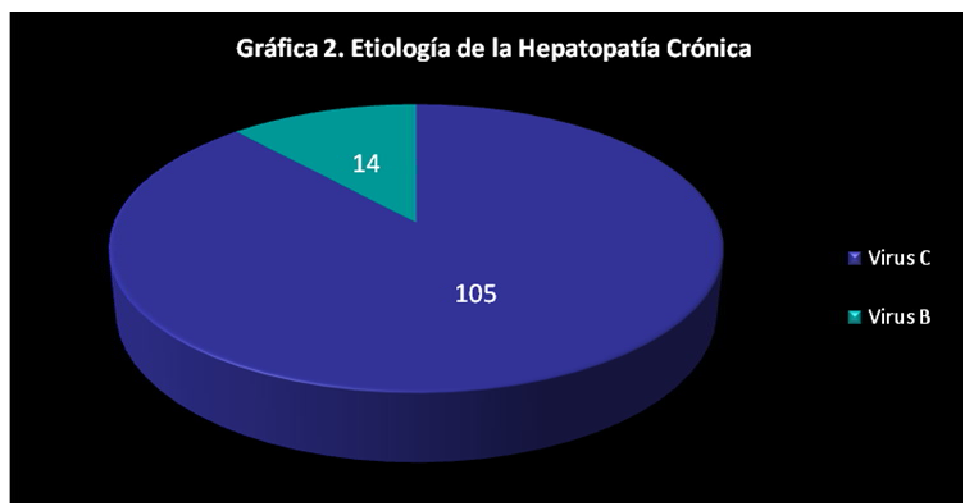
IMC= índice de masa corporal; VHC= virus de hepatitis C; VHB= virus de hepatitis B; DM2= diabetes mellitus tipo 2.

En ambos grupos se documento sobrepeso (mujeres 28.28/ hombres 26.65), como se muestra en la **tabla 1**.

La media de edad al diagnóstico de la enfermedad fue menor en el grupo de hombres, observando una frecuencia de presentación similar entre los 21 y 60 años, como se muestra en la **gráfica 1**.



La etiología más frecuente fue la infección por virus C en el 88.23% de los pacientes (57 mujeres/48 hombres), como se muestra en la gráfica 2.



El 42.85% de los pacientes tenía ingesta activa de alcohol al momento de la biopsia (18 mujeres, 33 hombres).

El nivel de aminotransferasas fue mayor en los pacientes con VHC en relación a VHB (ALT 105.79/83.28, y AST 83.90/50.21, respectivamente. Éste comportamiento también fue observado con la GGT (95.72/69.14, respectivamente). La cifra de plaquetas fue normal en ambos grupos, **Tabla 2**.

Tabla 2. Descripción de las variables estudiadas en el grupo total VHC y VHB

	TOTAL	VHC	VHB
	N(%)	N (%)	N(%)
ALT, promedio (±DE)	103.14(91.16)	105.79(92.81)	83.28(±77.70)
AST, promedio (±DE)	79.94(±82.97)	83.90(±86.76)	50.21(±34.43)
GGT promedio(±DE)	92.59(±97.80)	95.72(±100.91)	69.14(±68.48)
Plaquetas promedio (±DE)	182,81(±84.09)	182,81(±84.09)	194,11(±79.90)

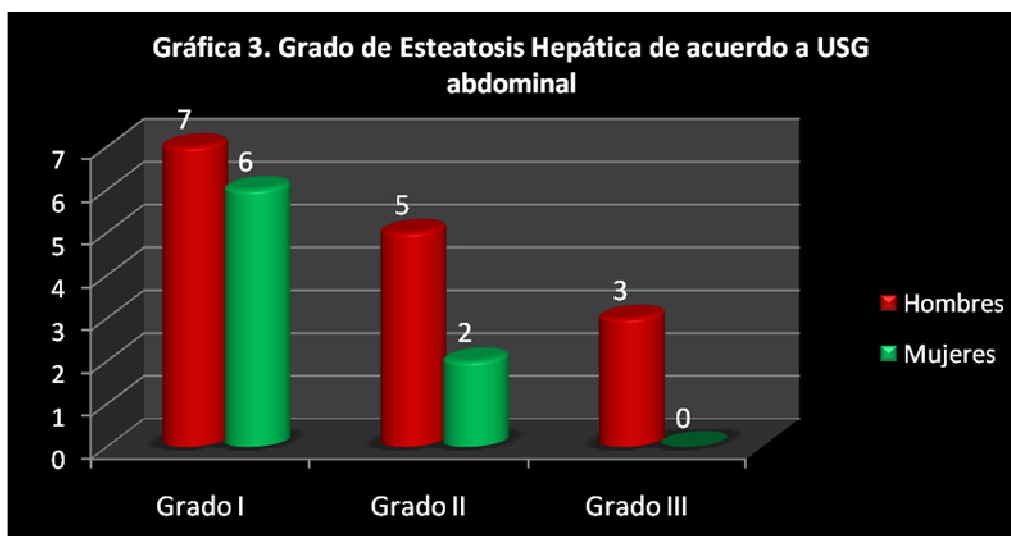
VHC= virus de hepatitis C; VHB= virus de hepatitis B; ALT= aspartato-alanino-transferasa; AST= aspartato-amino-transferasa; GGT= gama-glutamyl-transpeptidasa

La biopsia hepática detectó algún grado de fibrosis en el 46.21% de los pacientes (30 hombres, 25 mujeres), se estableció cirrosis en 8 pacientes (6.72%) sin diferencias en relación al género. La fibrosis hepática se observó en el 46.21% de los pacientes (30hombres, 25 mujeres), **tabla 3**. El total de pacientes tenían un Child A, solo 2 pacientes con datos de hipertensión portal no hemorrágica, caracterizado por várices esofágicas pequeñas y la presencia de ascitis (**tabla 1**). Ningún paciente presentó hepatocarcinoma.

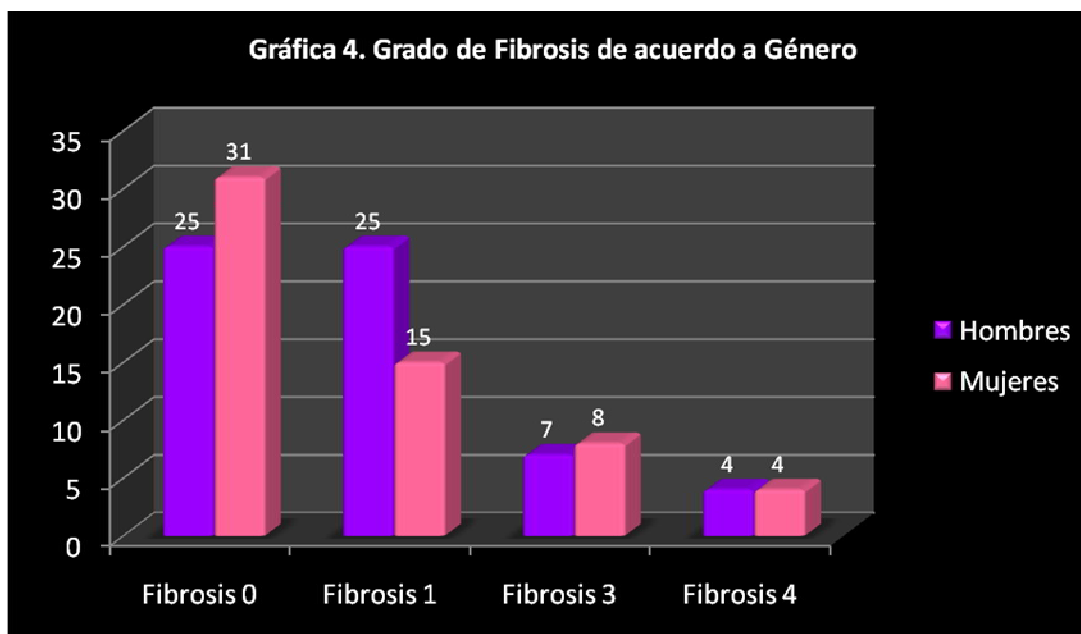
Tabla 3. Resultado del grado de fibrosis en base a la escala de Knodell.

	N (%)	Mujeres	Hombres
	119 (100)	N (%)	N (%)
		58 (100)	61(100)
Biopsia hepática			
Fibrosis			
0	56(47.05)	31(53.44)	25(40.98)
1	40(33.61)	15(25.86)	25(40.98)
3	15(12.60)	8(13.79)	7(11.47)
4	8(6.72)	4(6.89)	4(6.55)

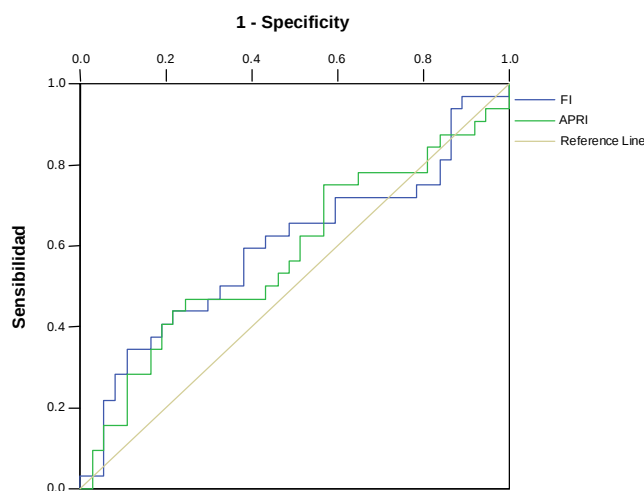
El USG abdominal reportó esteatosis hepática en el 38.65% de los pacientes, en sus diversos grados, con predominio en el grupo de hombres: 7 en el grado I , 5 en el grado II y 3 en el grado III, **gráfica 3**.



La biopsia hepática detectó algún grado de fibrosis en el 46.21% de los pacientes (32 hombres, 23 mujeres), en diversos grados (F1, F3) de acuerdo a la escala de Knodell, cirrosis (F4) en 8 pacientes (6.72%) con igual distribución en hombres y mujeres. Gráfica 4.

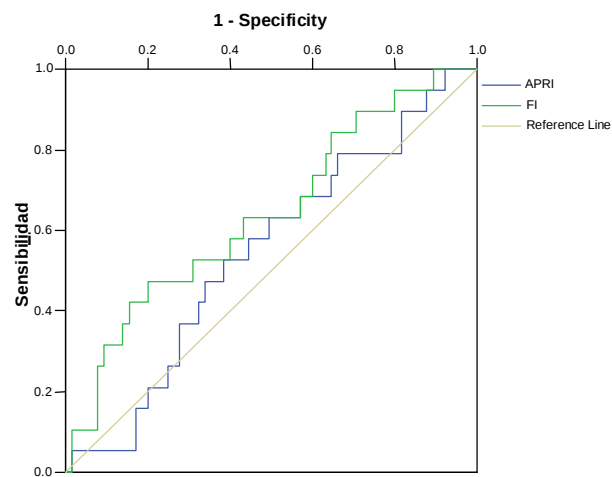


Se construyeron curvas ROC para evaluar sensibilidad y especificidad de los Índices de Forns (IF) y el APRI, utilizamos el grado de fibrosis reportado en la biopsia hepática. El índice de Forns para F0-F1 reportó un área bajo la curva (ABC) de 0.59 (IC 95%, 45.7-73.4), tomando el punto de corte < 4.2 , en nuestra población, encontramos una sensibilidad del 96.9% y especificidad 0%. Al considerar un punto de corte < 8.4 la sensibilidad se encontró en 34.4 % y la especificidad en 89.2%. El APRI para F0-F1 reportó un ABC de 0.57 (IC 95%, 43.7-70.7), tomando el punto de corte < 0.5 reportó una sensibilidad de 84.8% y especificidad del 15%. Al considerar el punto de corte < 1.26 la sensibilidad bajo hasta 45.5 % y la especificidad aumento a 75%, **gráfica 5**.



Gráfica 4. Curva ROC para evaluar sensibilidad y especificidad del IF y APRI en fibrosis F0-F1.

El índice de Forns para F3-F4 reportó un área bajo la curva (ABC) de 0.64 (IC 95%, 49.7-78.4), tomando el punto de corte > 6.9 , en nuestra población, encontramos una sensibilidad del 75.7% pero con baja especificidad 38%. Al considerar un punto de corte > 9.6 la sensibilidad bajó hasta 31.6% pero la especificidad aumentó a 90.9%. El APRI para F3-F4 reportó un ABC de 0.54 (IC 95%, 40.3-68.7), tomando el punto de corte > 1.5 reportó una sensibilidad de 38.1% y especificidad del 69.1%. Al considerar el punto de corte > 2.05 la sensibilidad bajó hasta 23.8% pero la especificidad aumentó hasta 79.4%, **gráfica 6.**



Gráfica 5. Curva ROC para evaluar sensibilidad y especificidad del IF y APRI en fibrosis F3-F4

CONCLUSIONES

El desarrollo de modelos simples que incluyen parámetros bioquímicos empleados en la práctica clínica habitual, permite predecir la fibrosis hepática en pacientes con hepatopatía de origen viral, sobre todo en aquellos que tienen virus C. Sin embargo aún es necesario continuar trabajando en la perfección de éstos métodos, ya que los resultados de los mismos, de manera general, tanto en poblaciones anglosajonas como hispanas, no son del todo óptimos, y el conocimiento de la fibrosis es de vital importancia para el manejo del paciente con hepatitis crónica.

Concluimos que nuestros resultados no demostraron el valor predictivo reportado en otras series para el diagnóstico de fibrosis leve. Idealmente se necesitaría evaluar de manera prospectiva parámetros clínicos y bioquímicos de fácil disponibilidad en la evaluación posterior al tratamiento, con la finalidad de evitar biopsias innecesarias en los casos de fibrosis mínima o ausente.

ANEXO 1.

SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS DE PACIENTES CON HEPATITIS CRONICA

PACIENTES

No. _____
 Nombre _____
 Registro _____
 Teléfono _____
 Edad _____ Sexo _____ Peso _____
 Talla _____ PVT _____ PCB _____
 Dx _____

ANTECEDENTES

Diabetes Mellitus SI NO
 Hiperlipidemia SI NO
 Transfusiones SI NO
 Unidades _____ Año _____
 Cirugía SI NO Año _____
 Alcohol SI NO
 Cantidad/día _____ Años _____
 Tabaquismo SI NO
 Cantidad/día _____ Años _____

CUADRO CLINICO

Asintomático SI NO
 Fatiga SI NO
 Pérdida de peso SI NO
 Ictericia SI NO
 Ascitis SI NO
 Perímetro abd _____ Gdo _____
 Encefalopatía SI NO
 Grado _____
 CHILD-PUGH-----
 HTD SI NO
 VE SI NO
 VG SI NO
 GPH SI NO
 Edema SI NO
 Estigmas hep SI NO
 Hepátomegalia SI NO

LABORATORIOS

Fecha _____
 Hb _____
 Hto _____
 Leucos _____
 Plaquetas _____
 TP _____
 TPT _____
 AST _____
 ALT _____
 FAL _____
 BT _____
 BI _____
 BD _____
 Glucosa _____
 BUN _____
 GGT _____
 Prot Tot _____
 Albúmina _____
 Colesterol _____
 Triglicéridos _____
 Cr _____
 Cl _____
 Na _____
 K _____
 DCr 24hr _____
 Amonio _____
 Hierro _____
 Sat Trans _____
 Ferritina _____

ELECTROLITOS URINARIOS

Cl U _____
 Na U _____
 K U _____

ESTUDIO ENDOSCOPICO

Fecha _____
 No. Estudio _____
 VE SI NO
 VG SI NO
 VE Y VG SI NO
 GPH SI NO
 Leve Grave
 VE, VG, GPH SI NO
 OTROS _____

BIOPSIA HEPATICA

Fecha _____
 No. _____
 Hepatitis crónica SI NO
 Fibrosis portal SI NO
 F0 F1 F2 F3 F4
 Esteatosis (grado) _____
 Cirrosis SI NO

ULTRASONIDO

Fecha _____
 Normal SI NO
 Porta (mm) _____
 Bazo (mm) _____
 Ascitis SI NO
 Colaterales SI NO
 Hepatopatía crón SI NO
 Esteatosis SI NO
 Esplenomegalia SI NO
 Lesiones focales SI NO
 Litiasis vesicular SI NO
 Dilatación vía biliar SI NO
 Flujo portal _____
 Flujo esplénico _____
 Hallazgos _____

Esplenomegalia SI NO

TOMOGRAFIA

Fecha _____
 Normal SI NO
 Hepatopatía crón SI NO
 Esteatosis SI NO
 Esplenomegalia SI NO
 Lesiones Focales SI NO
 Litiasis vesicular SI NO
 Dilatación vía biliar SI NO

RESONANCIA MAGNETICA

TRATAMIENTO

P. PRIMARIA SI NO
 DOSIS FREC DIAS

B-bloq _____
 5MNI _____

P. SECUNDARIA SI NO
 FARMACOS DOSIS FREC DIAS

Bbloqueador _____
 5MNI _____

TX ENDOSCOPICO SI NO

No. Programa _____

EV SI NO

No. Sesiones _____

LV SI NO

No. Sesiones _____

CIRUGIA SI NO

Fecha _____

INFECCIONES

Intrahospitalaria SI NO
 Extrahospitalaria SI NO
 NEUMONIA SI NO
 IVU SI NO
 PERITONITIS SI NO
 FLEBITIS SI NO
 TX DE INFECCIONES SI NO

HEPATOCARCINOMA SI NO

Fecha Dx _____

BIOPSIA SI NO

Fecha Bx _____

SEROLOGIA

VHB SI NO

VHC SI NO

GHE _____

Fecha _____

aFP _____

Fecha _____

EKG(Fecha) _____

RX TORAX _____

PFRp _____

Gasometría _____

CATETERISMO SH

GPSH _____

PSHL _____

PSHE _____

PRESIONES CARDIOPUL

GC _____

PAP _____

PCP _____

PAD _____

VCI _____

FC _____

TA _____

PAM _____

COMENTARIOS

Anexo 2. Información para los pacientes.

Usted ha sido seleccionado para participar en el proyecto titulado: “**Validación de pruebas no invasivas para diagnóstico de fibrosis hepática en Hepatitis crónicas de etiología viral**”, y para incluirlo necesitamos su consentimiento.

El estudio requiere de hacer una evaluación clínica, con interrogatorio de sus antecedentes y exploración de sus condiciones clínicas, toda la información será manejada de manera confidencial. Asimismo, dentro del estudio se le realizarán una serie de estudios que incluyen: 1) estudios de laboratorio con determinación y medición de marcadores bioquímicos en sangre, 2) un ultrasonido abdominal, y 3) la biopsia hepática. Estudios que han sido solicitados por su médico tratante, durante los cuales se evaluarán las características del hígado y vías biliares. Estas muestras serán realizadas por la Dra. Brenda Herrera Chi, Dr. Jorge Mendez Navarro, Dra. Nayeli Ortiz Olvera, participantes de este proyecto.

Los resultados de este estudio permitirán simplificar uno de los métodos utilizados actualmente para hacer el diagnóstico de fibrosis hepática.

Su participación es voluntaria y por lo tanto, se podrá retirar en forma voluntaria del mismo.

Su participación en este estudio no será recompensada con ningún incentivo económico.

Le agradecemos de antemano su valiosa colaboración.

Para cualquier aclaración o duda respecto a este estudio favor de acudir con la Dra. Brenda Herrera Chi y Dr. Jorge Mendez Navarro, al Servicio de Gastroenterología Centro Médico Nacional Siglo XXI en horario de 07:00 a 14:00hrs, teléfono 56276900 extensión 21566.

Anexo No 3 . Carta de consentimiento informado.**Validación de pruebas no invasivas para diagnóstico de fibrosis hepática en Hepatitis crónicas de etiología viral**

Se me ha preguntado si estoy de acuerdo en participar en un trabajo que investiga la utilidad de una prueba no invasiva para diagnóstico de fibrosis hepática, mediante la realización de una biopsia hepática y pruebas serológicas, con la finalidad de poder entender mejor mi enfermedad.

He recibido información clara y por escrito de los motivos (objetivos) del estudio, así como de los beneficios y riesgos de los procedimientos necesarios en el protocolo de investigación.

Se han atendido todas mis dudas a cerca de la participación en el protocolo denominado: **“Validación de pruebas no invasivas para diagnóstico de fibrosis hepática en Hepatitis crónicas de etiología viral”**.

Se me ha explicado que este estudio consistirá en: asistir por la mañana al servicio de gastroenterología y al laboratorio de gastroenterología, con ayuno de 8hrs. Se me realizará un USG abdominal y posteriormente se realizará la biopsia hepática, bajo la técnica estándar. Durante el estudio se tomará una muestra de sangre en ayuno para la determinación de marcadores serológicos y fibrotest.

Al inicio del estudio acudiré con el investigador (Dra. Brenda Herrera Chi o Dr. Jorge Méndez Navarro) para que me realicen un examen físico y unas preguntas respecto a las molestias.

Se me ha informado que la biopsia hepática tiene algunos riesgos para mi salud, y la toma de muestras de sangre no tiene riesgos para mi salud. La biopsia hepática será solicitada por mi médico tratante. El procedimiento ha reportado algunos riesgos, aunque con baja probabilidad, como son: dolor, hemorragia y perforación. Las pruebas serológicas no ha reportado complicaciones hasta el momento.

Se me ha comunicado que los procedimientos empleados en este protocolo, no tendrán costo alguno para mí. Asimismo, se me ha notificado que, ante la eventual presentación de una complicación directamente relacionada con los estudios realizados en el protocolo, los gastos generados por mi atención médica serán cubiertos por el IMSS.

Se me ha informado que por participar en este estudio, no seré recompensado con ningún incentivo económico.

Acepto participar de manera voluntaria. Se me ha asegurado la confidencialidad de la investigación. Sé que puedo retirarme en cualquier momento y que por ello no voy a perder mis beneficios como paciente del instituto.

Nombre_____ Firma_____

Testigo1_____ Firma_____

Relación con el sujeto de investigación_____

Testigo2_____ Firma_____

Relación con el sujeto de investigación_____

Investigador que obtiene el consentimiento

Nombre_____ Firma_____

Fecha del consentimiento informado:_____2008.

REFERENCIAS

1. Sebastiani G, Vario A, Guido M, Alberti A. Sequential algorithms combining non-invasive markers and biopsy for the assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis B *World J Gastroenterol* 2007; 13(4): 525-531.
2. Romero M, Martín del Campo M., Oterob A, et al. Estudio comparativo de dos modelos que utilizan parámetros bioquímicos en el diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática en pacientes con hepatitis C. *Med Clin (Barc)* 2005;124:761-4
3. Afdhal N., Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: A concise review. *Am J Gastroenterol* doi:1111/j.1572-0241.2004.30110.x
4. Standish R., Cholongitas E., DhillonA., et al. An Appraisal of the Histopathological Assessment of Liver Fibrosis. *Gut* 2006;55:569–578.
5. Crockett S., Kaltenbach T., Keeffe E. Do We Still Need a Liver Biopsy? Are the Serum Fibrosis Tests Ready for Prime Time? *Clin Liver Dis* 2006;10:513–534
6. Kelleher B., Nezam A. Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis *Clin Liver Dis* 2005; 9:667– 683
7. Shaheen A., Wan A., and Myers R. FibroTest and FibroScan for the Prediction of Hepatitis C-Related Fibrosis: A Systematic Review of Diagnostic Test Accuracy. *Am J Gastroenterol* 2007; 102:2589–2600
8. Mukherjee S, Sorrell M.F. Noninvasive test for liver fibrosis. *Sem Liv Dis* 2006;26:337-347.
9. Vargas V. Métodos no invasivos para predecir la fibrosis hepática en la hepatitis por el virus C crónica. *Med Clin (Barc)* 2005;124:775-7
10. Albanis E., Friedman S. Diagnosis of Hepatic Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis C. *Clin Liver Dis* 2006;10:821–833

- 11.- Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:518-526
12. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2003;36:986-992
13. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Myers, Albretch J. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized trial of peg interferon alfa-2b and ribavirina. *Hepatology* 2003;38:481-92.
14. Cales P, Oberti F., Michalak S., et al. A Novel Panel of Blood Markers to Assess the Degree of Liver Fibrosis. *Hepatology* 2005;42:1373-1381.
15. Calvez S, Thabut D, Messous D, et al. The predictive value of Fibro Test vs APRI for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004;39:862-3.
16. Thabut D, Simon M, Myers RP, et al. Noninvasive prediction of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;37:1220-1.
17. Halfon P, Bourliere M, Deydier R, et al. Independent prospective multicenter validation of biochemical markers (fibrotest-actitest) for the prediction of liver fibrosis and activity in patients with chronic hepatitis C: The fibropaca study. *Am J Gastroenterol* 2006;101:547-555.
18. Lee VS, Science to practice: Can MR imaging replace liver biopsy for the diagnosis of early fibrosis? *Radiology* 2006;239:309-10).
19. Romero-Gómez M, Gómez-González E, Madrazo A, et al. Optical analysis of computed tomography images of the liver predicts fibrosis stage and distribution in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2008;47).
20. Schneider A, Caspary WF, Saich R, et al. 13-C methacetin breath test shortened: 2-point-measurement after 15 minutes reliably indicate the presence of liver cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2007;41:33-37).

21. Matthias Hofer. Curso Básico de Ecografía. 5ta edición. 2006, Editorial Médica Panamericana.
22. Grant A, Neuberger J. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. Gut 1999; 45:IV₁-IV₁₁
23. Sheehan D.C., Hrapchak B.B, Theory and practice of histotechnology. The C.V. Mosby compañía, 1973.
24. The French METAVIR cooperative study group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. Hepatol 1994;20:15-20.
25. Ramos Paesa, Marcilla F. Valoración de los modelos APRI y Forns para el diagnóstico no invasivo de fibrosis en pacientes con hepatitis C coinfectados y no coinfectados por VIH. An Med Interna 2007; 24: 369-374.
26. Shiffman ML. Retreatment of patients with chronic hepatitis C. Hepatology 2002; 36:S128-S134.
27. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. J Hepatol 1986; 2:165-173.
28. Pohl A. Behling C, Oliver D, Kilani M. Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. Am J Gastroenterol 2001; 96:3142-3146.
29. Forns X, Ampurdanes S, Llovet J. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. Hepatology 2002;36:986-992.
30. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. Lancet 2001; 357:1069-1075.

31. Sud A, Hui JM, Farrell GC. Improved prediction in fibrosis in chronic hepatitis C using measures of insulin resistance in a probability index. *Hepatology* 2004; 39:1239-1247.
32. Benlloch S, Berenguer M, Prieto M. Prediction of fibrosis in HCV-infected liver transplant recipients with a simple noninvasive index. *Liver Transpl* 2005;11:456-462.
33. Ramos Paesa, Marcilla F. Valoración de los modelos APRI y Forns para el diagnóstico no invasivo de fibrosis en pacientes con hepatitis C coinfectados y no coinfectados por VIH. *An Med Interna* 2007; 24: 369-374.