

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

**CORRELACIÓN ENTRE BIOMARCADORES HEPATICOS PARA
FIBROSIS Y NECRO-INFLAMACION Y LOS HALLAZGOS EN LA
BIOPSIA HEPÁTICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON
ENFERMEDAD HEPÁTICA CRÓNICA.
ESTUDIO MULTICÉNTRICO.**

**TESIS
PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN
GASTROENTEROLOGÍA Y NUTRICIÓN PEDIÁTRICA**

TESISTA: Dr. Pablo Manuel Hernández Frias

TUTOR: Dra. Judith Flores Calderón
Departamento de Gastroenterología

ASESOR METODOLOGICO: Dr. Segundo Morán Villota

Investigadores Asociados:Dr.Guillermo Ramón García
Dra. Ma.del Rosario Velasco Lavín
Dra. Ma. Del Carmen Bojórquez



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.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS

UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
"2008, Año de la Educación Física y el Deporte"

COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Ref. 09-B5-61-2800/200800 1700

Octubre 02, 2008


DR. JUDITH FLORES CALDERÓN

Servicio de Gastroenterología Pediátrica
UAME Hospital de Pediatría
Centro Médico Nacional Siglo XXI
México, D. F.

Informo a usted que el protocolo titulado: ***"Correlación de biomarcadores para fibrosis hepática y los hallazgos en la biopsia hepática en pacientes pediátricos con enfermedad hepática crónica. Estudio multicéntrico"***, fue sometido a la consideración de esta Comisión Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas éticas vigentes y la carta de consentimiento informado es suficientemente explícita, por lo cual tengo el agrado de hacerle saber que con base en las opiniones de los vocales de esta Comisión, se ha emitido dictamen de **AUTORIZADO**, con número de registro: **2008-785-046**.

Atentamente



DOCTOR CÉSAR A. CRUZ SANTIAGO

Presidente
Comisión Nacional de Investigación Científica

Con copia:

- Dr. Hermilo de la Cruz Yáñez, Director de la UMAE Hospital de Pediatría, C.M.N. Siglo XXI.
- Dr. Miguel Villasis Keever, Director de Educación e Investigación en Salud, UMAE Hospital de Pediatría, C.M.N. Siglo XXI.

JOT/iah
2561-2008-072

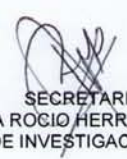
IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

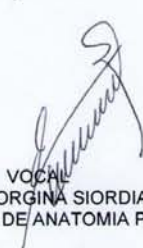
4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores México 06720



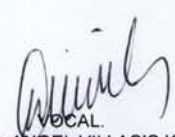
PRESIDENTE
DRA. JUDITH FLORES CALDERON.
JEFE DEL SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA PEDIATRICA.



SECRETARIO
DRA. JULIA ROCIO HERRERA MÁRQUES
DIVISION DE INVESTIGACION EN SALUD.



VOCAL
DRA. ALICIA GEORGINA SIORDIA REYES.
JEFE DEL SERVICIO DE ANATOMIA PATOLOGICA.



VOCAL.
DR. MIGUEL ANGEL VILLASIS KEEVER.
UNIDAD DE INVESTIGACION EN EPIDEMIOLOGIA CLINICA.



VOCAL.
DRA. KARLA MIRANDA BARBACHANO.
SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA PEDIATRICA.

**DRA. GRACIELA CASTAÑEDA MUCIÑO
DIRECTOR DE EDUCACION E INVESTIGACION EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRIA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**DRA. JUDITH FLORES CALDERON
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE GASTROENTEROLOGIA PEDIATRICA
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRIA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**DR. PABLO MANUEL HERNANDEZ FRIAS
RESIDENTE DE SEGUNDO AÑO
GASTROENTEROLOGIA Y NUTRICION PEDIATRICA
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRIA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

TESISTA

**Dr. Pablo Manuel Hernández Frias.
Matricula: 99364457
Residente de 2do Grado
Gastroenterología pediátrica
UMAE Hospital de Pediatría
Centro Medico Nacional Siglo XXI**

INVESTIGADOR PRINCIPAL

**Dra. Judith Flores Calderón
Gastroenteróloga pediatra
Matricula 2860228
UMAE Hospital de Pediatría
Centro Médico Nacional Siglo XXI**

INVESTIGADOR ASOCIADO

**Dr. Segundo Morán Villota
Investigador Titular A
Laboratorio de Investigación en Gastroenterología
UMAE Hospital de Pediatría
Centro Medico Nacional Siglo XXI**

INDICE

ANTECEDENTES.....	1
JUSTIFICACION.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
OBJETIVOS.....	9
HIPÓTESIS.....	10
METERIAL Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN.....	19
CONCLUSIONES.....	21
BIBLIOGRAFIA.....	22

RESUMEN

Correlación entre biomarcadores hepáticos para fibrosis y necro-inflamación y los hallazgos en la biopsia hepática de pacientes pediátricos con enfermedad hepática crónica. Estudio Multicéntrico.

Antecedentes: La biopsia hepática es el método usual para la valoración del daño hepático en pacientes con hepatopatía crónica, ya que permite conocer la extensión y magnitud del daño necro-inflamatorio hepático y el grado de fibrosis. Sin embargo, al momento actual existe una clara infrautilización del procedimiento por razones atribuibles al médico, al paciente o familiares del mismo, quienes visualizan la biopsia hepática como un método invasivo, asociado a dolor, estancia hospitalaria, no exento de complicaciones y de alto costo operativo para las unidades hospitalarias donde se realiza. Por ello, se han buscado métodos no invasivos como son los biomarcadores para el diagnóstico de fibrosis y actividad necro-inflamatoria hepática.

Objetivos: Determinar la correlación entre biomarcadores no invasivos hepáticos (Fibro Test y Acti Test) y los hallazgos de la biopsia hepática en pacientes pediátricos con enfermedad hepática crónica.

Material y métodos: Se realizó un estudio prolectivo, transversal y multicéntrico en el cual se incluyó de manera consecutiva a los pacientes que acudieron a la clínica de Hepatología o de Gastroenterología Pediátrica de cada uno de los Centros participantes.

Se realizó la determinación de biomarcadores Fibro Test – Acti Test en pacientes pediátricos de 2 meses a 16 años con diagnóstico de enfermedad hepática crónica y programados para realización de biopsia hepática. El grado de fibrosis y de actividad necroinflamatoria en la biopsia hepática fue evaluado por un patólogo pediátrico utilizando la escala METAVIR.

Análisis: Las características demográficas se describen en términos de mediana (valores mínimos y máximos). Se realizaron curvas de características operativas para el receptor (curva ROC) para la obtención de los puntos de corte de cada uno de los biomarcadores no invasivos hepáticos. Se evaluó sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo e intervalos de confianza del 95%. El punto de corte de cada uno de los índices se definió como el punto con la mayor sensibilidad y especificidad para identificar a los pacientes con fibrosis avanzada y con los diferentes niveles de inflamación. Para establecer el diagnóstico de fibrosis y actividad necro-inflamatoria hepática se consideró el resultado de la escala METAVIR.

Los valores de Fibro Test y Acti Test se correlacionaron con los correspondientes grados de fibrosis y necro-inflamación, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman.

Resultados: Se incluyeron un total de 70 pacientes, 2 pacientes fueron eliminados del estudio por presentar biopsia hepática insuficiente; los restantes 68 pacientes tuvieron una mediana de edad de 132 meses (9 - 204 meses), el 56% (n=38) corresponden al sexo masculino y el 44% (n=30) al femenino. Las biopsias se realizaron por laparoscopia en 42 casos, en los restantes 26 fue mediante punción guiada por ultrasonido.

Presentan diagnóstico de enfermedad hepática grasa no alcohólica 26 pacientes (38.2%), hepatitis autoinmune: 16 (23.5%), post operado de procedimiento de Kasai: 12 (17.6%), idiopático: 6 (8.8%), enfermedad hepática crónica secundaria a infección por virus de hepatitis C: 1 (1.5%), enfermedad hepática crónica secundaria a fármacos: 5 (7.4%) y enfermedad metabólica: 2 pacientes (3.0%).

La curva ROC para el Fibro Test reveló que el mejor punto de corte para predecir fibrosis avanzada (F3-F4) fue mayor que 0.35 con sensibilidad de 88% (IC 95% 68.0 - 96.0), especificidad de 80 % (IC 95% 29 - 98.0), valor predictivo positivo 69.52 %, valor predictivo negativo de 79.68% y un área bajo la curva de 0.90.

No se encontró correlación entre el grado de actividad inflamatoria de la biopsia hepática y el índice Acti Test mediante el coeficiente de correlación de Spearman ($R=0.028$, $p = 0.297$).

Conclusiones: Los resultados sugieren que la determinación de Fibrotest puede ser de utilidad para evaluar la presencia de fibrosis avanzada (>F3) en niños, y por lo tanto podría ser una buena opción durante la evaluación inicial de los pacientes para discriminar quienes tienen fibrosis avanzada al momento del diagnóstico; y en el seguimiento para evaluar el desarrollo o progresión de la cirrosis, utilidad potencial que deberá explorarse en estudios clínicos con una mayor número de pacientes.

ANTECEDENTES

En la práctica clínica habitual en Hepatología y Gastroenterología, la biopsia hepática es el método usual para la valoración del daño hepático en pacientes con enfermedad hepática crónica de diferente etiología ya que permite conocer la extensión y magnitud del daño necro-inflamatorio y el grado de fibrosis del hígado⁽¹⁾.

Desafortunadamente, la biopsia de hígado tiene errores de muestreo, una alta variabilidad intra e inter-observador, es invasiva, costosa y propensa a complicaciones⁽²⁻⁶⁾. En pacientes adultos hasta un 30% experimentan dolor severo después del procedimiento, 0.3% tienen complicaciones graves, y una mortalidad de 1/10,000.⁽⁷⁻⁸⁾

Por ello, se han buscado métodos, que permitan conocer los grados de fibrosis y necroinflamación hepática a través de biomarcadores no invasivos como el FibroTest y Acti Test (Biopredictive, Paris Francia)⁽⁹⁾. Afortunadamente, en el transcurso de los últimos años se ha logrado acumular experiencia clínica y la prueba ha sido validada en pacientes adultos con hepatitis C crónica⁽¹⁰⁾, hepatitis B⁽¹¹⁾ y en enfermedad hepática grasa de origen alcohólico y no alcohólico^(12,13,14).

Enfermedad hepática crónica en la infancia.

Se ha denominado hepatitis crónica a la inflamación hepática con persistencia de transaminasemia más allá del tiempo esperado de resolución de una hepatitis aguda, cuyo tiempo de evolución se ha considerado > 12 semanas, ó menor, en caso de corresponder a una enfermedad que por sí misma evolucionará a la cronicidad como la Hepatitis autoinmune ó la Enfermedad de Wilson entre otras⁽¹⁵⁾. Existen múltiples causas y estas van a depender de la edad del paciente. Por lo general durante el período neonatal y del lactante se presentan como Síndrome de colestasis cuya causa más frecuente descartando a la atresia de vías biliar es son las formas esporádicas o familiares de Hepatitis neonatal que puede evolucionar hacia la cronicidad⁽¹⁶⁾; en etapas posteriores desde la edad preescolar hasta la adolescencia las hepatitis crónicas son secundarias a infecciones por Virus de la Hepatitis C y B⁽¹⁷⁾, uso de drogas hepatotóxicas⁽¹⁸⁾, Hepatitis autoinmune⁽¹⁹⁾, Enfermedad de Wilson⁽²⁰⁾ y en muchas ocasiones no se logra encontrar la causa siendo denominadas de origen criptogénico⁽²¹⁾.

Durante los últimos años la enfermedad grasa hepática no alcohólica (EGHNA) como parte del Síndrome metabólico en niños ha sido un motivo frecuente de consulta por presentar transaminasemia persistente. La prevalencia de esta entidad por ecografía oscila entre 1-6% – 4% en países como EUA, Japón y España.^(22,23)

En estos casos algunos pacientes con dieta y ejercicio normalizan sus parámetros bioquímicos, pero no así en otros que evolucionan a la cronicidad reportándose en sus biopsias hepáticas diferentes grados de fibrosis e inclusive cirrosis hepática. En estudios realizados en adultos con EHGNA con seguimiento a 10 años se ha demostrado presencia de fibrosis grado 3 en 21 % y grado 4 en 28% de los casos⁽²³⁾.

En los últimos años se ha generado un gran interés por la fibrogénesis hepática, la cual se considera es una respuesta del parénquima hacia un estímulo nocivo independientemente de su etiología.

La fibrosis hepática es un problema de salud grave asociado a una importante morbi-mortalidad, constituye la vía final común en la evolución de múltiples patologías hepáticas, cuyo estadio último es la cirrosis. La fibrosis se produce como consecuencia de una respuesta exagerada del hígado ante agresiones crónicas que, con independencia de su origen, ocasionan daño tisular acompañado de expansión de la matriz extracelular y de la sustitución del tejido hepático normal por tejido cicatricial. Estas alteraciones en la arquitectura hepática desembocan, finalmente, en un deterioro funcional. ⁽²⁴⁾

En pacientes pediátricos con enfermedad hepática crónica se ha documentado la presencia de fibrosis/cirrosis en 69% de aquellos con diagnóstico de hepatitis autoinmune; 21% en pacientes con enfermedad de Wilson; infección por virus C 25%; infección por virus B 3.5% y en 3% en pacientes con EHGNA.

El diagnóstico etiológico de las diferentes causas que provocan hepatitis crónica se basa en estudios microbiológicos, bioquímicos, inmunológicos, estudios de imagen, y recientemente en métodos moleculares y genéticos, no obstante se continúa haciendo uso de la biopsia hepática como apoyo diagnóstico y en algunos casos para decidir el inicio del tratamiento. ⁽²⁵⁾

Biopsia Hepática

En la actualidad la biopsia hepática continua siendo el “mejor estándar” disponible para el diagnóstico de fibrosis/cirrosis y actividad necroinflamatoria hepática, aunque esta muy lejos de considerarse un gold estándar perfecto. ⁽²⁶⁾

Entre los principales inconvenientes de la biopsia hepática están los siguientes: es un método invasivo, no exento de riesgos, con mortalidad de 1:10,000; la interpretación de sus hallazgos tiene importante variabilidad interobservador; en un 20% de los casos solo se representa una pequeña parte del hígado;

tiene la posibilidad de error de muestreo que oscila entre 33% y 50% en ambos lóbulos, como lo han mostrado estudios de biopsia por laparoscopia en donde las muestras tomadas de ambos lóbulos hepáticos tienen una diferencia de al menos un grado de fibrosis entre ellas, en una tercera parte de los pacientes. Se ha reportado además discordancia de 40% entre los grados de necroinflamación. Además la biopsia hepática incrementa los costos económicos ya que los pacientes permanecen hospitalizados ante el riesgo de sangrado.⁽²⁷⁾

Actualmente el estudio histopatológico del hígado esta encaminado a determinar la extensión y severidad del daño hepático secundario a múltiples causas y decidir el inicio de tratamiento como sería el caso de Hepatitis autoinmune o de hepatitis crónicas de origen viral através del reporte en cuanto al grado de necroinflamación hepática, o bien puede ser útil para decidir poner en lista de espera para trasplante hepático en aquellos casos en que ya este establecida una cirrosis hepática ⁽²⁸⁾.

Biomarcadores hepáticos.

FibroTest.

Es un biomarcador no invasivo de fibrosis hepática desarrollado por Biopredictive (Francia) el cual fue inicialmente validado en pacientes con hepatitis C crónica, y posteriormente también para otras causas comunes de enfermedad hepática crónica en pacientes adultos como: Hepatitis B, enfermedad hepática grasa no alcohólica y esteatohepatitis alcohólica.^(29,30)

Desde la publicación del primer estudio en hepatitis C que incluía 323 pacientes ⁽³¹⁾, otras publicaciones han confirmado y validado su valor diagnóstico para determinar el grado de fibrosis hepática y es considerado como una alternativa a la biopsia de hígado en pacientes adultos^(32,33).

El valor predictivo de Fibro Test para diagnóstico de fibrosis significativa, en adultos con Hepatitis B se ha reportado con un área bajo la curva ROC de 0.75-0.95 con respecto al estándar de referencia (biopsia hepática)^(33,34).

Un meta análisis en el cual se incluyeron 30 estudios con un total de 6,378 pacientes con enfermedad hepática crónica secundaria a infección por virus C, infección por virus B, EHGNA y enfermedad hepática alcohólica, determino un AUROC para Fibro Test de 0.84 (95% CI 0.83 – 0.86) para diagnóstico de fibrosis avanzada, sin diferencias significativas entre las diferentes etiologías.⁽³⁴⁾

En México en un estudio realizado en 108pacientes con hepatitis C el AUC de Fibro Test para la discriminación entre fibrosis no significativa (F0-F1) y significativa (F2-F4) fue de 0.78 (IC95%:0.65-0.86), y ajustado de acuerdo a los diferentes estadios de fibrosis de 0.80; con una sensibilidad de 78%, especificidad de 65%, VPP 75% y VPN 69%⁽³⁵⁾.

En niños existen escasos reportes de la utilidad del Fibrotest, en 2 estudios publicados en pacientes pediátricos con hepatitis crónica se reportó un AUC de 0.73 para fibrotest en relación a fibrosis avanzada en la biopsia y en el otro el AUC (IC95%) de Fibro Test para el índice de fibrosis por Metavir >F2 de 0.87 (0.71-1.00) y para MetavirF4 de 0.84 (0.67-1.00) ⁽³⁶⁾.

Un tercer estudio realizado en pacientes pediátricos que comparo Fibro Test, APRI (índice de la relación AST/plaquetas) y FibroScan (elastografía) reportó AUC de 0.73 (0.47-0.87), 0.73 (0.49 – 0.87) y 0.88 (0.68 – 0.95) respectivamente y concluyó que los tres marcadores no invasivos correlacionan con los diferentes grados de fibrosis. ⁽³⁷⁾

En dos estudios realizados en pacientes pediátricos con hepatitis crónica secundario a infección por virus c en donde se incluyeron a 38 y 50 pacientes respectivamente se encontró una concordancia entre el valor de fibrotest y el reporte de la biopsia hepática evaluada mediante el sistema METAVIR, reportándose en el primer estudio una AUC de 0.81⁽³⁸⁾ y en el segundo que incluyo pacientes de 2 a 18 años una AUC de 0.97 con una sensibilidad de 89%. ⁽³⁹⁾

FibroTest combina la medida sanguínea de los siguientes cinco marcadores bioquímicos^(40,41):

- a. Alfa2-macro globulina.
- b. Haptoglobina.
- c. Apolipoproteina A1.
- d. Bilirrubina total
- e. Gama-glutamyl-transpeptidasa.

Los parámetros deben ser ajustados a la edad y genero del sujeto.

El resultado de Fibro Test se presenta como una escala de 0 a 1.0, proporcional a la intensidad de la fibrosis, mientras mas alto el valor mayor será el grado de fibrosis. (Anexo 1)^(42,43)

Actitest.

Es un biomarcador no invasivo para determinar el grado de actividad necroinflamatoria hepática, el cual ha sido validado en pacientes adultos con enfermedad hepática crónica secundaria a infección por virus C y B así como enfermedad hepática alcohólica. Acti Test combina los mismos marcadores bioquímicos del Fibro Test además de los niveles de alanina amino transferasa (ALT), corregidas para la edad y el género.⁽⁴⁴⁾

En metanálisis publicados se reporta que Acti Test correlaciona con los diferentes grados de inflamación determinados por la escala METAVIR, con una AUC de 0.71. El resultado de Acti Test se presenta en una escala 0.0 a 1.0. A mayor valor, mayor será el grado de actividad necroinflamatoria.⁽⁴⁵⁾
(Anexo 1)

Los valores de Fibro Test y Acti Test son calculados mediante un algoritmo patentado (Biopredictive, Paris Francia).

*M*arcadores bioquímicos.

Alfa2-Macroglobulina (A2MG): es una proteína sintetizada por el hígado (hepatocitos, células de Ito o estelares y granulomas). La concentración en suero aumenta en presencia de fibrosis hepática⁽⁴⁶⁾. La síntesis de A2MG se incrementa durante la activación de células estelares en el curso de la fibrogenesis. Inhibe las proteinasas, en particular la actividad de la colagenasa, e incrementa la fibrosis inhibiendo la degradación de las proteínas de la matriz extracelular⁽⁴⁷⁾.

Haptoglobina: Es una proteína sintetizada por el hígado la cual disminuye en presencia de fibrosis. Esta reducción es independiente de la presencia de hemólisis o de insuficiencia hepática. Cuando ocurre la fibrosis, su regulación es opuesta a la de A2MG, lo cual puede ser explicado por los roles opuestos del Factor de Crecimiento Hepatocitario (HGF) y el Factor de Crecimiento Transformante (TGF beta 1) durante la fibrogenesis y la inflamación. Un aumento del HGF en el curso de fibrosis experimental, se asocia con una disminución de TGF beta 1, un incremento del A2MG y una disminución de la Haptoglobina. Los mismos resultados han sido reportados en pacientes con hepatitis C crónica confirmando que el HGF estimula la síntesis de A2MG y disminuye la síntesis de la haptoglobina^(48,49).

Apolipoproteína A1 (ApoA1): es una proteína sintetizada por el hígado, la cual transporta colesterol. En la fibrosis hepática, la liberación de ApoA1 de los hepatocitos es obstaculizada por las fibras de colágeno de la matriz extracelular (vía residuos de lisina e interacción de colágeno) y su transcripción se reduce igualmente. Diversos estudios han demostrado que los niveles séricos de ApoA1 decrecen en presencia de la fibrosis^(50-55.).

Gama glutamiltrans-peptidasa (GGT): es una enzima sintetizada por los hepatocitos, la cual se incrementa con la fibrosis. Los mecanismos de este incremento son desconocidos. En algunos estudios se ha descrito que el incremento está asociado con el HGF, pero permanece independiente del aumento de las transaminasa y la bilirrubina. Aparte de la colestasis, otra hipótesis independiente es que el incremento de GGT se relaciona con un incremento del factor de crecimiento epidérmico durante la fibrogénesis^(56,57).

Bilirrubina total: La bilirrubina es un pigmento que resulta de la degradación de los eritrocitos (hemoglobina), la cual es normalmente transportada en la sangre como bilirrubina indirecta, biotransformada por el hígado, y excretada en forma de bilirrubina directa. En la fibrosis hepática, la bilirrubina se incrementa.⁽⁵⁸⁾

Alaninoamino transferasa (ALT o TGP): Esta es una enzima sintetizada por los hepatocitos, es un indicador de la integridad del hepatocito ya que los procesos que provocan necrosis o lesión están asociados a un incremento de la enzima. La ALT se encuentra principalmente en el citosol del hepatocito y su elevación es más específica de daño hepático en comparación de AST (aspartatoaminotransferasa)⁽⁵⁹⁾.

JUSTIFICACION

Las enfermedades hepáticas crónicas en la población pediátrica en general, tienen un alto índice de morbi-mortalidad y se necesita un alto grado de sospecha clínica desde su inicio para evitar o manejar en forma temprana sus complicaciones. La importancia en la detección radica en que es una enfermedad crónica, habitualmente con síntomas inespecíficos o asintomática a su inicio, asociada a co-morbilidad y que tiene el potencial de evolucionar hacia la cirrosis. Para determinar la causa o lo avanzado de la enfermedad se realiza el estudio histopatológico de la biopsia hepática, sin embargo no está exenta de complicaciones y errores, es por ello que se han estudiado nuevos biomarcadores no invasivos que permitan hacer el diagnóstico temprano y una evaluación del grado de fibrosis y necroinflamación de manera cuantitativa.

Hay escasos estudios donde se valora la utilidad de los biomarcadores no invasivos hepáticos en la población pediátrica.

La intención del presente estudio es determinar la correlación de los resultados de los biomarcadores no invasivos hepáticos (Fibro Test – Acti Test) con los datos obtenidos de la biopsia hepática en niños con enfermedad hepática crónica, en nuestro medio, con el fin de conocer la utilidad de estas pruebas no invasivas, prácticamente exentas de complicaciones, de menor costo operativo y cuyo uso podría disminuir la necesidad de realizar una biopsia hepática.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Los biomarcadores no invasivos para fibrosis y actividad necro-inflamatoria (Fibro Test-Acti Test) han mostrado ser confiables para la detección de fibrosis y actividad necro-inflamatoria hepática en pacientes adultos con enfermedad hepática crónica de diferentes etiologías, consideramos es de importancia determinar la correlación entre dichos biomarcadores hepáticos no invasivos y los hallazgos histológicos en pacientes pediátricos con enfermedad hepática crónica a fin de determinar su utilidad en esta población.

Por lo que surgen las siguientes preguntas de investigación:

1.- ¿Hay correlación entre el biomarcador no invasivo para fibrosis hepática Fibro Test y los diferentes estadios de fibrosis en la biopsia hepática?

2.- ¿Hay correlación entre el biomarcador no invasivo para necro-inflamación hepática Acti Test y los diferentes estadios de necro-inflamación en la biopsia hepática?

OBJETIVO GENERAL.

1.- Determinar la correlación entre los biomarcadores hepáticos (Fibro Test y Acti Test) y el grado de fibrosis y actividad necro-inflamatoria de la biopsia hepática en pacientes pediátricos con enfermedad hepática crónica.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1.-Determinar la correlación entre los estadios de fibrosis histológica y Fibro Test.

2.-Determinar la correlación entre el estadios de necro-inflamación histológica con Acti Test.

HIPOTESIS

Existe correlación similar a la reportada en la literatura entre los resultados de los biomarcadores hepáticos no invasivos (FibroTest y ActiTest) con los resultados de fibrosis y actividad necro-inflamatoria de la biopsia hepática en pacientes pediátricos con enfermedad hepática crónica.

MATERIAL Y MÉTODOS

LUGAR DE REALIZACION DEL ESTUDIO: Servicio de Gastroenterología Pediátrica de los siguientes centros participantes: CMN Siglo XXI, CMN La Raza, CMN de Occidente.

TIPO DE ESTUDIO: transversal, prolectivo y multicéntrico.

POBLACION DE ESTUDIO: Pacientes pediátricos que acudan a la clínica de Hígado o Gastroenterología pediátrica de los centros participantes con diagnóstico de enfermedad hepática crónica de marzo de 2008 a marzo de 2010.

CRITERIOS DE INCLUSION:

1. Paciente programado para biopsia hepática por enfermedad hepática crónica.
2. Edad: 2 meses a 16 años.
3. Hombres y mujeres.
4. Tener datos clínicos, bioquímicos, virológicos y/o imagenológicos compatibles con enfermedad hepática crónica con un tiempo de evolución > 12 semanas o < de 12 semanas de evolución en pacientes con diagnóstico de alguna hepatopatía crónica conocida.

CRITERIOS DE EXCLUSION:

1. Pacientes que tengan un intervalo mayor a cuatro semanas entre la muestra de sangre para marcadores biológicos y la biopsia de hígado.
2. Pacientes con falla hepática aguda.
3. Pacientes con infección sistémica aguda o hemólisis.
4. Pacientes con síndrome de Gillbert.

CRITERIOS DE ELIMINACION:

1. Pacientes en los cuales el Patólogo considere que la biopsia hepática no es interpretable.

DEFINICION DE VARIABLES.

1. Grado de fibrosis en la biopsia hepática. Definición: depósito de colágena como respuesta a un daño hepático, reportado en el estudio histopatológico emitido por el servicio de Patología. Escala de medición: cualitativa ordinal. Categorías: Índice de Metavir: F0, F1, F2, F3 y F4 en donde a mayor puntaje, mayor grado de fibrosis.
2. Grado de necro-inflamación en la biopsia hepática: Definición: lesión hepatocelular con infiltración de células inflamatorias como respuesta a un daño hepático, reportado en el estudio histopatológico emitido por el servicio de Patología. Escala de medición: cualitativa ordinal. Categorías: Índice de Metavir: A0, A1, A2, A3 en donde a mayor puntaje mayor grado de actividad histológica.
3. Fibro Test. Definición: biomarcador no invasivo para determinar el grado de fibrosis hepática. Incluye los valores séricos de Alfa 2-macroglobulina, Haptoglobina, Apolipoproteína A1, Bilirrubina total y Gamaglutamil transpeptidasa. Escala de medición: continua. Categoría: valores de 0.0 – 1.0 en donde a mayor sea el valor, mayor grado de fibrosis.
4. Acti Test. Definición: biomarcador no invasivo para determinar el grado de actividad necro-inflamatoria hepática. Incluye los valores séricos de Alfa 2-macroglobulina, Haptoglobina, Apolipoproteína A1, Bilirrubina total, Gamaglutamil transpeptidasa y Alanino aminotransferasa. Escala de medición: continua. Categoría: valores de 0.0 – 1.0 en donde a mayor sea el valor, mayor grado de actividad necro-inflamatoria
5. Alfa 2 macroglobulina. Definición: proteína sintetizada por el hígado cuyos valores aumentan en presencia de fibrosis. Escala de medición: continua. Categoría: mg/dl , valores normales de 111 - 226 mg/ dl.
6. Haptoglobina. Definición: proteína sintetizada por el hígado, sus valores disminuyen en presencia de fibrosis. Escala de medición: continua. Categoría: mg/dl, valores normales de 41 – 209 mg/dl.
7. Apolipoproteína A1. Definición: proteína sintetizada por el hígado la cual transporta colesterol. Disminuye sus valores en presencia de fibrosis. Escala de medición: continua. Categoría: mg/dl , valores normales 90 -170 mg/dl.
8. Bilirrubina Total. Definición: pigmento resultante de la degradación de los eritrocitos, la cual es transportada y metabolizada a nivel hepático para su eliminación. Sus valores incrementan ante presencia de fibrosis e inflamación. Escala de medición: continua. Categoría: mg/dl, valores normales 0.3 – 1.6 mg/dl.

9. Gamaglutamiltranspeptidasa. Definición: enzima sintetizada por los hepatocitos, la cual incrementa en presencia de fibrosis. Escala de medición: continua. Categoría: U/L, valores normales de 8 – 78 U/L.

10- Alanino amino transferasa. Definición: enzima sintetizada por los hepatocitos, se incrementa en presencia de inflamación y necrosis del tejido hepático. Escala de medición: continua. Categoría: U/L, valores normales 21 -72 U/L.

Variables Universales

1. Edad. Definición: tiempo que ha vivido un ser en meses o años desde su nacimiento hasta el momento en que es realizada la biopsia hepática. Escala de medición: cuantitativa de intervalo. Categoría: meses y años.

2. Sexo. Definición: condición orgánica que divide a los individuos en hombre y mujer según su función reproductora. Escala de medición: cualitativa nominal. Categoría: masculino o femenino.

TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Se incluyeron 68 pacientes con diagnóstico de enfermedad hepática crónica que fueron atendidos en la consulta externa del servicio de Gastroenterología Pediátrica o en la Clínica de Hepatología de cada uno de los centros participantes de marzo de 2008 a marzo de 2010.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Las características demográficas se describen en términos de mediana (valores mínimo y máximo) y porcentajes. Se realizaron curvas de características operativas para el receptor (curva ROC) para la obtención de los puntos de corte de cada uno de los biomarcadores no invasivos. Se evaluó sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo e intervalos de confianza del 95%. El punto de corte de cada uno de los índices se definió como el punto con la mayor sensibilidad y especificidad para identificar a los pacientes con fibrosis avanzada y con los diferentes niveles de inflamación. Los valores de Fibrotest y Actitest se correlacionaron con los correspondientes grados de fibrosis y necro-inflamación, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman.

Estudio prolectivo, transversal y multicéntrico para determinar la correlación entre biomarcadores hepáticos no invasivos y los grados de fibrosis y necroinflamación reportados en la biopsia hepática en pacientes pediátricos con enfermedad hepática crónica. Para llevarlo a cabo se realizó lo siguiente:

1.- Se tomo a todos los pacientes una muestra de sangre venosa (5 ml) en ayuno de por lo menos 8 hrs, dentro de un periodo no mayor de 8 días posteriores a la toma de la biopsia hepática para la determinación de los biomarcadores requeridos en las pruebas Fibrotest y Actitest. Desarrollado por Biopredictive Paris (France, FibroSure in the US patented artificial intelligence algorithm USPTO 6,631,330, <http://www.uspto.gov/patft/index.html>)

2.- Las muestras fueron centrifugadas y almacenadas de acuerdo a las especificaciones del proveedor (-80c) y enviadas a laboratorio Biopredictive para la determinación de: alfa 2 macroglobulina, Apolipoproteina A1, Haptoglobina, bilirrubina total y gamaglutamil transpeptidasa para calcular el índice Fibrotest, para el índice Actitest además de las determinaciones anteriores se utilizo el valor de alanino aminotransferasa.

3.- La evaluación de las biopsias se realizó por un patólogo pediatra en forma ciega utilizando la escala METAVIR. (Anexo 2)Para la adecuada evaluación histopatológica se considero:

1. Tejido hepático fijado en formol al 10%.
2. Bloque de parafina con la biopsia de hígado.
3. Al menos 2 laminillas histológicas sin teñir.
4. Al menos 4 laminillas teñidas, que incluyan las tinciones de hematoxilina – eosina, Tricrómico de Masson, PAS y reticulo.

Todas las biopsias disponen de al menos 10 espacios porta y fueron evaluadas de forma semicuantitativa.

4.- Se realizo una hoja de recolección de datos por cada paciente, donde se incluye información obtenida del expediente clínico, así como el resultado de los biomarcadores y del reporte histopatológico.(Anexo 3)

5.- A partir de cada una de las hojas de recolección de datos se realizo una base de datos electrónica en el programa Excel.

6.- Una vez completada la base de datos, se procedió a analizar la información y elaborar un informe final de resultados.

ASPECTOS ETICOS

La toma de muestra de sangre venosa que se realizó a cada paciente es un procedimiento de riesgo mínimo, el cual se realiza de forma rutinaria al ingresar el paciente a hospitalización, por lo cual no fue necesario la realización de una carta de consentimiento informado.

Si bien los resultados de la biopsia hepática se utilizaron para el estudio, esta no se va a realizar como parte de los procedimientos del proyecto; tener biopsia es un criterio de inclusión.

El presente estudio fue sometido a revisión por el Comité Local de Investigación en Salud de la Unidad Médica de Alta Especialidad del hospital de Pediatría del Centro Medico Nacional Siglo XXI, aprobándose para su realización.

RESULTADOS.

Se incluyeron en el estudio 70 pacientes, se eliminaron 2 pacientes del estudio, con diagnóstico de enfermedad hepática grasa no alcohólica procedentes de CMN La Raza por presentar biopsia de hígado insuficiente (menos de 10 espacios porta).

Los restantes 68 pacientes tuvieron una mediana de edad de 132 meses (9 – 204 meses) el 56% (n=38) corresponden al sexo masculino y el 44% (n=30) al femenino. Tabla 1 y 2.

Las biopsias se realizaron por laparoscopia en 42 casos, en los restantes 26 fue mediante punción guiada por ultrasonido.

La etiología de la enfermedad hepática crónica fue: enfermedad hepática grasa no alcohólica 26 pacientes (38.2%), hepatitis autoinmune: 16 (23.5%), post operado de procedimiento de Kasai: 12 (17.6%), idiopático: 6 (8.8%), enfermedad hepática crónica secundaria a infección por virus de hepatitis C: 1 (1.5%), enfermedad hepática crónica secundaria a fármacos: 5 (7.4%) y enfermedad metabólica (enfermedad de Wilson, Tirosinemia): 2 pacientes (3.0%). Grafico 3

De los 26 pacientes con enfermedad hepática grasa no alcohólica en 13 (50%) pacientes se reportó en la biopsia hepática necro-inflamación grado 1 y en los restantes 13 pacientes inflamación grado 2. En cuanto al grado de fibrosis por biopsia hepática se reportó fibrosis portal (F1) en 19/26 (73%) pacientes, fibrosis portal con algunos septos (F2) en 5/26 (19.23%) y fibrosis portal con abundantes septos (F3) en 2/26 (7.65%) pacientes. Grafico 2.

En el 39% (n=27/68) de los pacientes la presentación de la enfermedad hepática crónica fue subclínica y corresponden a los 26 pacientes con EHGNA y al paciente con infección por virus C.

Se documentó antecedente familiar de obesidad en 22 pacientes (32.6%), diabetes mellitus en 13 (19.1%) e hipertensión arterial en 12 (17.6%) pacientes. Solo 2 (2.9%) pacientes tienen antecedente familiar de enfermedad hepática crónica (Infección por virus C, síndrome metabólico/esteatohepatitis).

El signo clínico de presentación más común fue: hepatomegalia en 61% (n = 41/68) de los pacientes; seguido de esplenomegalia 26% (n=18/68), ascitis 15% (n=10/68) y sangrado de tubo digestivo secundario a varices esofágicas en 13.2% (n=9/68) de los pacientes.

Con base a la escala METAVIR se determinó ausencia de fibrosis (F0) n=5, fibrosis portal (F1) n=24, fibrosis portal con algunos septos fibrosos (F2) n=13, fibrosis portal con abundantes septos fibrosos (F3) n=19 y cirrosis (F4) n=7. Grafico 1.

En el 38.2% (n=26/68) de los pacientes se documentó fibrosis avanzada (F3-F4), corresponden a pacientes con diagnóstico de EHGNA n=2 , hepatitis autoinmune n=6, idiopático n=3, enfermedad hepática crónica secundaria a fármacos n=3, post cirugía de Kasai n= 10 y metabólico n=2.

En cuanto a la actividad necro-inflamatoria se determinó actividad leve n=47 %, moderada n=35.2%, intensa n=14.7 % y sin actividad n=2.9 %. Grafico 4.

La curva ROC para el Fibro Test reveló que el mejor punto de corte para predecir fibrosis avanzada (F3-F4) fue mayor que 0.35 con sensibilidad de 88% (IC 95% 68.0 - 96.0), especificidad de 80% (IC 95% 29.1 – 98.0), valor predictivo positivo 69.52 % , valor predictivo negativo de 79.68% y un área bajo la curva de 0.90 (95% IC 0.77- 1.00). Tabla 3 . Grafico 5.

No se encontró correlación entre el grado de actividad inflamatoria de la biopsia hepática y el índice Acti Test mediante el coeficiente de correlación de Spearman ($r=0.028$, $p=0.297$). Con punto de corte de 0.35 el AUC fue de 0.40.

La enfermedad hepática crónica según la edad y causa que la genere puede llegar a pasar desapercibida por tener manifestaciones subclínicas sobre todo en aquellos casos con enfermedad hepática grasa no alcohólica y Hepatitis C, y en ocasiones ya tener fibrosis/cirrosis al momento del diagnóstico (97% de los pacientes de nuestro estudio) por lo que se ha hecho necesario la búsqueda y validación de técnicas no invasivas para estudiar a los niños en riesgo de tener fibrosis.

Para este fin se han utilizado diferentes parámetros bioquímicos que incluyen las pruebas de laboratorio convencionales así como la medición de marcadores séricos que reflejan la deposición y degradación de la matriz extracelular.

En este estudio se evaluó el biomarcador Fibro Test para identificar a pacientes pediátricos con fibrosis avanzada secundaria a enfermedad hepática crónica, los resultados muestran que el biomarcador es capaz de diferenciar la presencia de fibrosis avanzada de la ausencia de fibrosis. El Fibro Test se realiza a través de la determinación de marcadores bioquímicos que pueden ser realizados de rutina durante la valoración inicial de pacientes con enfermedad hepática crónica, lo cual ofrece una ventaja en comparación de otros biomarcadores descritos (hialuronan, colageno IV, inhibidor tisular de metaloproteinasa-1) los cuales no están disponibles de forma rutinaria en los centros hospitalarios.

En este estudio para la detección de fibrosis se utilizó el biomarcador Fibro Test, el cual ha sido probado ampliamente en pacientes adultos, donde una fibrosis significativa Metavir ≥ 2 correlaciona con una AUC de 0.85. En nuestro caso la correlación que obtuvimos para la estimación de fibrosis avanzada entre el índice de Fibrotest y los hallazgos histopatológicos de la biopsia fue de $r = 0.79$ (Coeficiente de Spearman). Estos resultados son comparables con aquellos reportados en el estudio de Ledinhen V, et al (37) en el cual se incluyeron 116 pacientes con edad media de 10.7 años con enfermedad hepática crónica de diferente etiología en los que se evaluó la correlación entre el grado de fibrosis hepática mediante Fibro Test y Elastografía (FibroScan) con el grado de fibrosis histológica (METAVIR) y en los cuales reportaron una correlación de Spearman de $r = 0.84$ y $r = 0.88$ respectivamente en niños con fibrosis avanzada (F3, F4).

En el estudio de Castera L et al (41), donde se incluyeron 183 pacientes con hepatitis C, se comparó la elastografía (FibroScan), Fibrotest y el índice de APRI (relación AST/plaquetas) con el grado histológico de fibrosis hepática evaluado mediante METAVIR obteniéndose una AUC de 0.90, 0.90 y 0.84 respectivamente para estadio F3 de fibrosis, resultado similar se obtuvo en nuestro estudio en donde la AUC para FibroTest fue de 0.90.

Cuando se comparó Actitest con la actividad necroinflamatoria en la biopsia se obtuvo una baja correlación ($r=0.028$, $p=0.297$) lo que consideramos se debió a que el índice de Actitest incluye como parámetros de inflamación hepática la ALT, enzima cuyos niveles no fueron significativamente altos en 76.47 % de los pacientes.

Los biomarcadores a diferencia de la biopsia hepática tienen bajo costo operativo, aunque actualmente hay dificultad para encontrar estándares de exactitud diagnóstica en los ensayos clínicos. El área bajo la curva (AUROC) utilizada en este estudio, es una prueba de hipótesis binarias, en donde se encuentra significativa pérdida de información y dependencia de un determinado estado de fibrosis o necroinflamación.

Así como lo determinado en el presente estudio el meta análisis realizado por Poyrnard T et al en donde se incluyen 6,378 pacientes de 30 diferentes estudios ha comprobado el valor diagnóstico de los biomarcadores (Fibrotest), reportando una AUC de 0.84 (95% CI, 0.83 – 0.86) y concluyendo son una alternativa eficiente, con excelente utilidad para identificar estadios avanzados de fibrosis/cirrosis.

La limitación principal del presente estudio es el número reducido de pacientes incluidos, además de las diferentes etiologías, ya que la sensibilidad y especificidad de los biomarcadores pudiera variar dependiendo la etiología de la enfermedad hepática crónica.

CONCLUSIONES

1.- Los resultados sugieren que la determinación de Fibrotest puede ser de utilidad para evaluar la presencia de fibrosis avanzada (F3-F4) en niños con enfermedad hepática crónica de diferentes etiologías.

2.- Fibro Test es una buena opción durante la evaluación inicial de los pacientes para discriminar quienes tienen fibrosis avanzada al momento del diagnóstico y en el seguimiento para evaluar el desarrollo o progresión de la fibrosis/cirrosis.

1. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001;344:495-500.
2. Labayle D, Chaput JC, Albuisson F, Buffet C, Martin E, Etienne JP. Comparison of the histological lesions in tissue specimens taken from the right and left lobe of the liver in alcoholic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol* 1979;3:235-40.
3. 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;1:523-5.
4. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614-8.
5. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003, 38;1449-57.
6. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Poynard T, for the LIDO Study Group. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005;128:1898-1906.
7. Poynard T, Ratziu V, Bedossa P. Appropriateness of liver biopsy. *Can J Gastroenterol.* 2000;14:543-8.
8. Cadranel JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEF). *Hepatology* 2000;32:477-81.
9. Afdhal NH. Biopsy or biomarkers: is there a gold standard for diagnosis of liver fibrosis? *Clin Chem.* 2004;50:1299-300.
10. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, Myers RP, Thabut D, Ratziu V, Mercadier A, Benhamou Y, Hainque B. Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comp Hepatol.* 2004;3:8.
11. Myers RP, Tainturier MH, Ratziu V, Piton A, Thibault V, Imbert-Bismut F, Messous D, Charlotte F, Di Martino V, Benhamou Y, Poynard T. Prediction of liver histological lesions with biochemical markers in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 2003;39:222-30.
12. Callewaert N, Van Vlierberghe H, Van Hecke A, Laroy W, Delanghe J, Contreras R. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics. *Nature Med* 2004;10;1-6.
13. Naveau S, Raynard B, Ratziu V, Abella A, Françoise Imbert-Bismut F, Messous D, Beuzen F, Capron F, Thabut D, Munteanu M, Chaput JC, Poynard T. The diagnostic value of biomarkers for the prediction of liver fibrosis in patients with chronic alcoholic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:167-74.

14. Ratziu V, Le Calvez S, Imbert-Bismut F, Messous D, Charlotte F, Bonyhay M, Munteanu M, Poynard T. Diagnostic value of biochemical markers

- (Fibrotest) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2003;38:510A.
15. Mowat AP. Chronic Hepatitis. In : *Liver Disorders in Childhood*. 3rd ed Butterworth-Heinemann Ltd 1994 :180-186
 16. Balistreri W, Bezerra JA. Whatever Happened to Neonatal Hepatitis ?*Clin Liver Dis* 2006;10 :27-53.
 17. Elisofon SA, Jonas MM. Hepatitis B and C in Children : Current treatment and future Strategies. *Clin Liver Dis* 2006 ;10 :13-148.
 18. Clarkson A, Choonara I. Surveillance for fatal suspected adverse drug reactions in the UK. *Arch Dis Child* 2002 ;87 :462-7
 19. Gregorio GV, Portmann B, Reid F y cols. Autoimmune Hepatitis in childhood : a 20 year experience. *Hepatology* 1997 ;25 :541-7.
 20. Sternlieb I, Scheinberg IH. Chronic hepatitis as a first manifestation of Wilson`s disease. *Ann Intern Med* 1972 ;76 :59-64
 21. Schwimmer J, Deutsch R, Kaen T. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics* 2006 ;118:1388-93
 22. Hardy S, Kleinman RE. Cirrhosis and Chronic Liver Failure. In :Suchy FJ, Sokol RJ, Balistreri WF. *Liver diseases in Children*. 3er ed. Cambridge University Press 2007:97-137.
 23. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ; NonalcoholicSteatohepatitisClinicalResearch Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41 :1313-21.
 24. Gebo KA, Herlong HF, Torbenson MS, Jenckes MW, Chander G, Ghanem KG, El-Kamary SS, Sulkowski M, Bass EB. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: A systematic review. *Hepatology* 2002; 36: S161-S172
 25. Moyer S, Reuben A. Procedures in Pediatric Hepatology. In : Suchy FJ. *Liver diseases in children*. Ed Mosby 1994 :330-46
 26. Herrera J, Solis A. Indicaciones actuales de la biopsia hepática. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*.2006 ;98(2) :122-135.
 27. Diestan G. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology*.2002;36:152-159.
 28. Ridaura-Sanz C. La biopsia en el diagnóstico de la enfermedad pediátrica. *Acta Pediátrica de México*. 2008;29(4): 216-226.
 29. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liverfibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001; 357: 1069-75.
 30. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Chevret S, Jardel C, Moussalli J, Messous D, Degos F. Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by Hepatitis C Virus: Longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepatitis* 2002; 9: 128-33.

31. Rossi E, Adams L, Prins A, Bulsara M, De Boer B, Garas G, MacQuillan G, Speers D, Jeffrey G. Validation of the FibroTest Biochemical Markers Score in Assessing Liver Fibrosis in Hepatitis C Patients. *ClinChem* 2003; 49: 450-454.
32. Myers RP, Ratziu V, Charlotte F, Imbert-Bismut F, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis: a comparison with historical features in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2419-25.
33. Myers RP, de Torres M, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Charlotte F, Poynard T. Biochemical markers of fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a comparison with prothrombin time, platelet count and the age-platelet index. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 146-153.
34. Poynard T, Morra R, Halfon P. Meta-analysis of the Fibro Test diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterology*.2007;7: 40.
35. Ortiz O, Herrera C, Moran S. Evaluación de índices no invasivos de fibrosis en pacientes mexicanos con hepatitis crónica por virus C. *Revista Mexicana de Gastroenterología*. 2010;4(75):389-395.
36. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Myers RP, Di Martino V, Thabut D, Moussalli J, Benhamou Y. FibroTest even better than liver biopsy ? *Clin Chem* 2003. Electronic Letter <http://www.clinchem.org/cgi/eletters/49/3/450>. Response: (21 March 2003)
37. Ledinhen V, Le Bail B, Rebouissoux L. Liver Stiffness measurement in children using fibroscan: feasibility study comparison with fibrotest, aspartate transaminase to platelets ratio index and liver biopsy. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*.2007;45:443-450.
38. Hermeziu B, Messous D, Fabre M. Evaluation of fibrotest-actitest in children with chronic hepatitis c virus infection. *Gastroenterologie clinique et biologique*.2010; 34: 16-22.
39. El-Shabrawi N, Mohsen N, Sherif M. Non invasive assessment of hepatic fibrosis and necroinflammatory activity in Egyptian children with chronic hepatitis c virus infection. *European journal of gastroenterology and hepatology*. 2010;22: 946-951.
40. Imbert-Bismut F, Messous D, Thibaut V, Myers RB, Piton A, Thabut D, Devers L, Hainque B, Mercadier A, Poynard T. Intralaboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) and reference ranges in healthy blood donors. *ClinChem Lab Med* 2004; 42: 323-33.
41. Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Lédinghen V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005; 128: 343-50.

42. Le Calvez S, Thabut D, Messous D, Munteanu M, Ratziu V, Imbert-Bismut F, Poynard T. FibroTest has higher Predictive values than APRI for fibrosis diagnosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 862-3(Letter).
43. Thabut D, Simon M, Myers RP, Messous D, Thibaut V, Imbert-Bismut F, Poynard T. Noninvasive prediction of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 37: 1220-1(Letter).
44. Halfon P, Imbert-Bismut F, Messous D, Antoniotti G, Benchetrit D, Cart-Lamy P, Delaporte G, Doutheau D, Klump T, Sala M, Thibaud D, Trepo E, Robert P, Myers RP, Poynard T. A prospective assessment of the inter-laboratory variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) in patients with chronic liver disease *Comparative Hepatology* 2002; 2: 3-7.
45. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Myers RP, Albrecht J. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized trial of peginterferon alfa-2b and ribavirin. *Hepatology* 2003; 38: 481-492.
46. Tiggelman AM, Linthorst C, Boers W, Brand HS, Chamuleau RA. Transforming growth factor-beta-induced collagen synthesis by human liver myofibroblasts is inhibited by alpha2-macroglobulin. *J Hepatol* 1997; 26: 1220-8.
47. Naveau S, Poynard T, Benattar C, Bedossa P, Chaput JC. Alpha-2-macroglobulin and hepatic fibrosis. Diagnostic interest. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 2426-32.
48. Bacq Y, Schillio Y, Brechot JF, De Muret A, Dubois F, Metman EH. Decrease of haptoglobin serum level in patients with chronic viral hepatitis C. *GastroenterolClinBiol* 1993; 17: 364-9.
49. Louagie HK, Brouwer JT, Delanghe JR, De Buyzere ML, Leroux-Roels GG. Haptoglobin polymorphism and chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1996; 25: 10-4.
50. Paradis V, Laurent A, Mathurin P, Poynard T, Vidaud D, Vidaud M, Bedossa P. Role of liver extracellular matrix in transcriptional and post-transcriptional regulation of apolipoprotein A-I by hepatocytes. *Cell Mol Biol* 1996; 42: 525-34.
51. Bedossa P, Poynard T, Abella A, Aubert A, Pignon JP, Naveau S, Leluc R, Lemaigre G, Martin ED, Chaput JC. Apolipoprotein AI is a serum and tissue marker of liver fibrosis in alcoholic patients. *Alcohol Clin ExpRes* 1989; 13: 829-33.
52. Poynard T, Abella A, Pignon JP, Naveau S, Leluc R, Chaput JC. Apolipoprotein AI and alcoholic liver disease. *Hepatology* 1986; 6: 1391-5.
53. Poynard T, Bedossa P, Mathurin P, Ratziu V, Paradis V. Apolipoprotein A1 and hepatic fibrosis. *J Hepatol* 1995; 22: 107-10.
54. Paradis V, Mathurin P, Ratziu V, Poynard T, Bedossa P. Binding of apolipoprotein A-I and acetaldehyde-modified apolipoprotein A-I to liver extracellular matrix. *Hepatology* 1996; 23: 1232-8.

55. Mathurin P, Vidaud D, Vidaud M, Bedossa P, Paradis V, Ratziu V, Chaput JC, Poynard T. Quantification of apolipoprotein A-I and B messenger RNA in heavy drinkers according to liver disease. *Hepatology* 1996; 23: 44-51.
56. Poynard T, Aubert A, Bedossa P, Abella A, Naveau S, Paraf F, Chaput JC. A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. *Gastroenterology* 1991; 100: 1397-402.
57. Edwards AM, Lucas CM, Baddams HM. Modulation of gamma-glutamyl transpeptidase in normal rat hepatocytes in culture by cell density, epidermal growth factor and agents which alter cell differentiation. *Carcinogenesis* 1987; 8: 1837-42.
58. Novili V, Marcellini M, DeVito R, Ciampalini P, Piemonte F, Camparcola D, Sartorelli MR, Angulo P. NAFLD in Children: A prospective Clinical-Pathological study and effect of Lifestyle Advice. *Hepatology* 2006;44:458-65.
59. Pradat P, Alberti A, Poynard T, Esteban JI, Weiland O, Marcellin P, Badalamenti S, Trepo C. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Hepatology* 2002; 36: 973-7.

Tabla 1. Características clínicas de los 68 pacientes.

Características	Mediana n=68.
Edad (meses)	132 (9 – 204)
Sexo (fem/masc)	44% / 56%
Peso (kg)	44.1 (6 - 99)
Talla(cm)	124 (62 - 175)
IMC	22.5 (13.2 – 48.5)
Hepatomegalia, n (%)	41 (61)
Esplenomegalia, n (%)	18 (26)

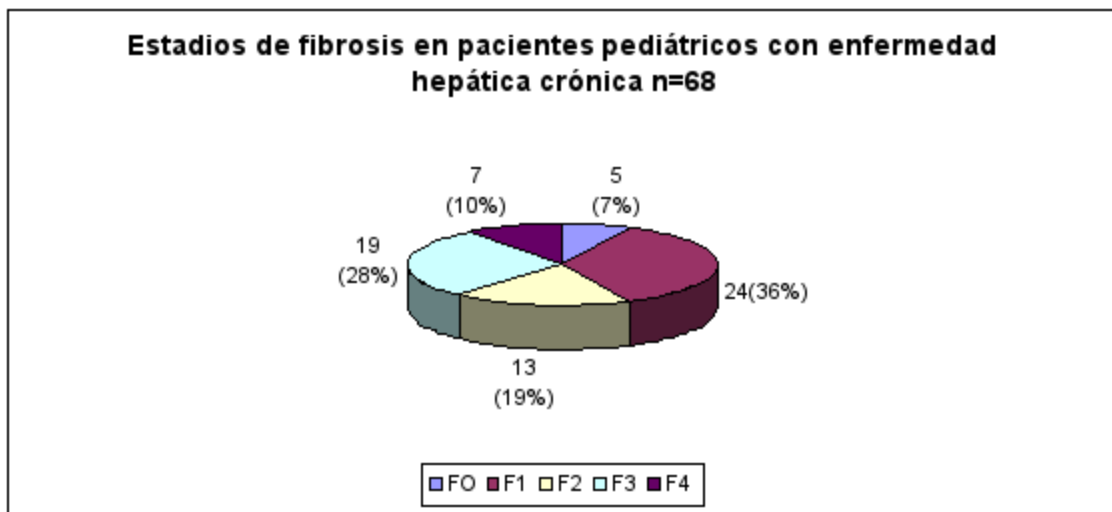
Tabla 2. Características bioquímicas de los 68 pacientes.

Características	Mediana n=68.
AST UI/L	89 (12 - 1210)
ALT UI/L	78 (15 – 730)
GGT UI/L	93 (14 – 1206)
BT mg/dL	0.65 (0.10 – 24.8)
Alfa 2 macroglobulina g/L	2.65 (1.50 – 7.74)
Haptoglobina g/L	0.94 (0.28 – 700)
Apolipoproteína A1 g/L	1.2 (0.23 – 68.3)
Fibro Test (0.0 - 1.0)	0.39 (0.05 – 0.99)

Tabla 3. Marcador no invasivo Fibro Test para diferenciar entre fibrosis avanzada (> F3) y la ausencia de fibrosis.

INDICE	Nivel de Corte	AUC	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD
FIBROTEST	0.35	0.90 (IC 95% 0.77-1.0)	88.0% (IC 95% 68-96)	80.0 % (IC 95% 29-98)

Grafica 1.



Grafica 2.

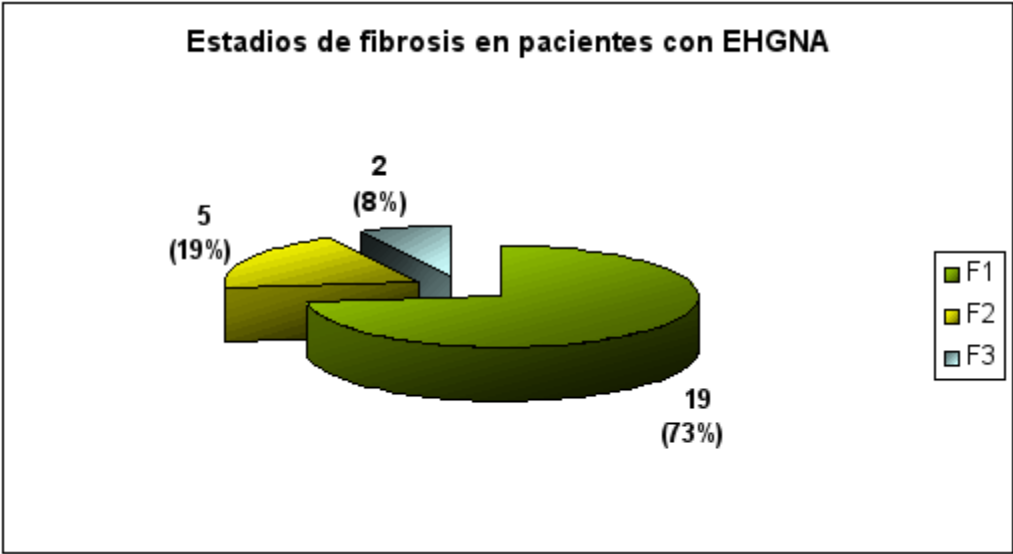


Grafico 3.

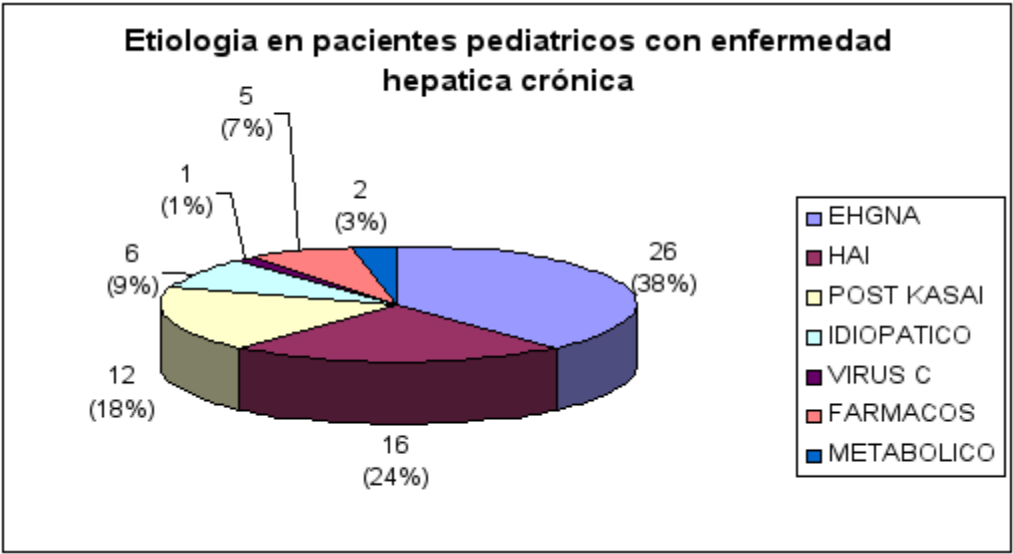


Grafico 4.

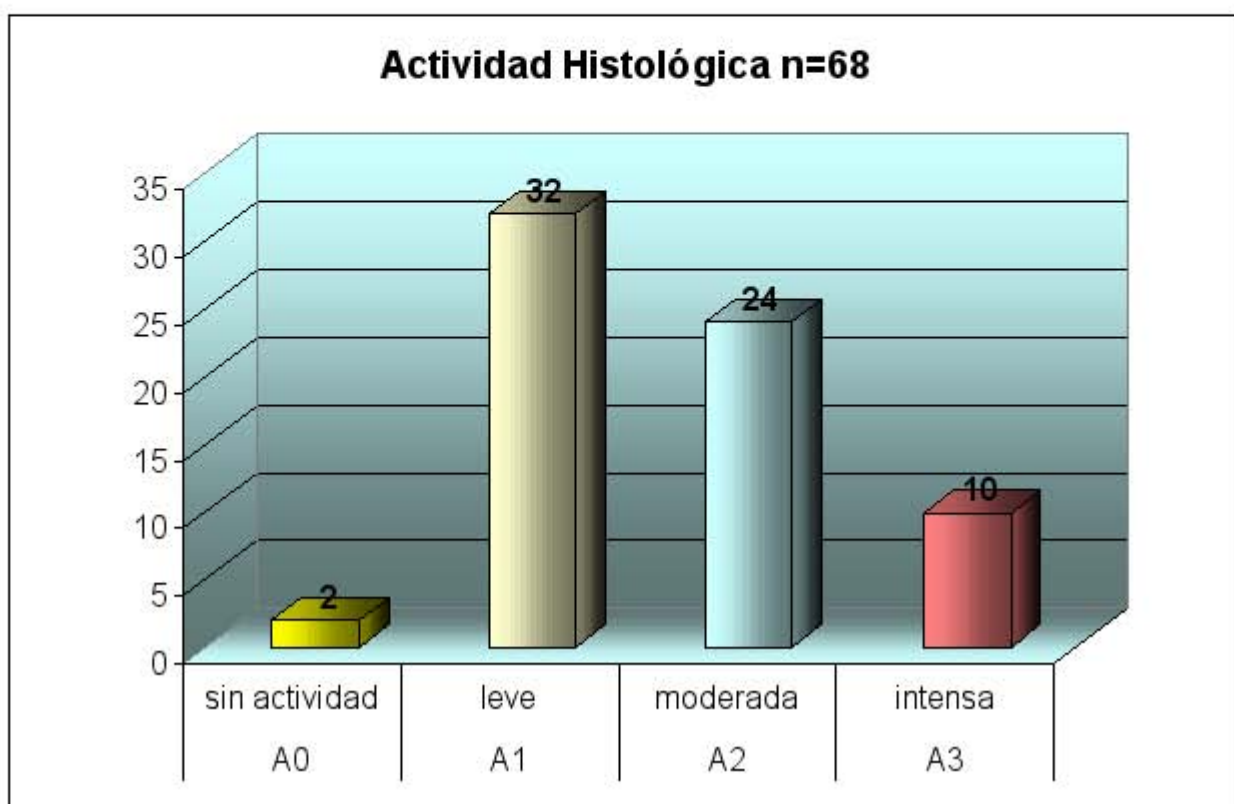
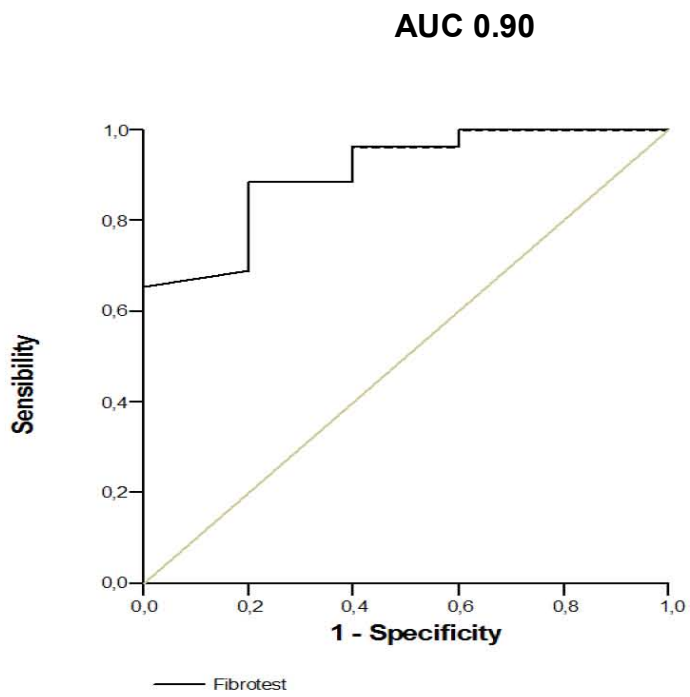


Grafico 5. Curva ROC Fibro Test.



Conversión de valores de Fibro Test/Acti Test con los estadios de fibrosis y activada necroinflamatoria.

FIBRO TEST	METAVIR
0.75 – 1.00	F4
0.73 – 0.74	F3 – F4
0.59 – 0.72	F3
0.49 – 0.58	F2
0.32 – 0.48	F1 – F2
0.28 – 0.31	F1
0.22 – 0.27	F0 – F1
0.00 – 0.21	F0

ACTI TEST	METAVIR
0.63 – 1.00	A3
0.61 – 0.62	A2 – A3
0.53 – 0.60	A2
0.37 – 0.52	A1 – A2
0.30 – 0.36	A1
0.18 – 0.29	A0 – A1
0.00 – 0.17	A0

Sistema METAVIR			
Criterios para Evaluación Histológica en Hepatitis Crónica			
Necrosis en sacabocado	+	Necrosis Lobular	= Índice de Actividad Histológica
0 (ninguna)		0 (ninguno o leve)	0 (ninguno)
0		1 (moderado)	1 (leve)
0		2 (severo)	2 (moderado)
1 (leve)		0, 1	1
1		2	2
2 (moderado)		0, 1	2
2		2	3 (severo)
3 (severo)		0, 1, 2	3
Puntaje de Fibrosis			
Puntaje	Descripción		
0	No fibrosis		
1	Agrandamiento irregular ("estrellado") del espacio porta pero sin formación de septos		
2	Agrandamiento del espacio porta con rara formación de septos		
3	Numerosos septos sin cirrosis		
4	Cirrosis		

Anexo 3

HOJA RECOLECCION.

ESTUDIO MULTICENTRICO FIBROTEST/ACTITEST.

Demográficos:

Centro participante: HP SXXI (1)CMN La Raza (2) HP CMO (3)
Iniciales del paciente:

Fecha de nacimiento: _____ Edad (años) _____
Género: M = 1 F = 0

AHF:

1. Hepatitis crónica 2. Obesidad 3. Diabetes 4. Hipertensión arterial

DX:

1. Idiopático 2. Autoinmune 3. Viral 4. EHGNA 5. Drogas/tóxicas 6. Secuelas post Kasai 7. Metabólico

Presentación clínica: 1. Asintomático 2. Sx. Vagos 3. Agudo 4. EHC

Peso (Kg) _____ Estatura (mts) _____ IMC _____

Datos clínicos: 1.si 2.no

Ictericia Esplenomegalia Hepatomegalia ascitis acantosis std/VE

Laboratorio:

AST (UI/l)	
ALT (UI/l)	
GGT (UI/l),	
BT (µmol/l),	
BD (µmol/l)	
Glucosa (mmol/l)	
Colesteroltotal (mmol/l)	

Triglicéridos (mmol/l)	
INR	
Plaquetas	
Haptoglobina (g/l)	
Alfa 2 macro globulina (g/l)	
Apolipoproteina A1 (g/l),	

Puntaje Fibrotest:

Puntaje Actitest:

Biopsia hepática:

Tipo: 1. punción. 2. abierta.3. Laparoscopica.

FIBROSIS	F0
	F1
	F2
	F3
	F4

INFLAMACIO N	A0
	A1
	A2
	A3