

LES MARQUEURS DE FIBROSE HÉPATIQUE : UN SURVOL.

Guillaume Paré, MD
Résident en biochimie médicale
CHUM

INTRODUCTION

La fibrose hépatique constitue certainement une des pierres angulaires de l'hépatopathie chronique. En effet, non seulement la fibrose est-elle la conséquence de presque toutes les maladies chroniques du foie, mais en plus, elle est une des composantes premières de la cirrhose. Or, de toutes les hépatopathies chroniques, celle où la fibrose revêt le plus d'importance est certainement l'hépatite virale C (1,2). De fait, la présence ou non de fibrose y dicte la conduite thérapeutique, c'est-à-dire l'utilisation ou non d'un traitement antiviral, coûteux et non sans effets secondaires graves. Malheureusement, le diagnostic de fibrose hépatique ne peut actuellement être posé que par biopsie, procédure invasive présentant des risques non nuls : 30 % de douleurs, 0,3 % de complications sévères et 0,03 % de décès (3,4). Il existe donc une solide justification à développer un test diagnostique non invasif de fibrose hépatique et ce n'est pas d'hier que la quête a débuté. Dès les années 1980, différents marqueurs, la plupart reliés au métabolisme du collagène, ont été testés. Or, aucun ne s'est avéré suffisamment sensible et spécifique pour une utilisation en clinique. Il aura donc fallu attendre le début des années 2000 pour qu'un souffle nouveau anime le domaine, soit celui des tests multiparamétriques qui s'appuient sur des scores savamment calculés à partir de données biochimiques et cliniques.

Le but de ce court article est donc de vous présenter un aperçu des quatre tests multiparamétriques les plus cités ainsi que d'un cinquième décrit pour son intérêt biochimique.

LE MULTIVIRC

Le premier test multiparamétrique d'estimation du degré de fibrose hépatique fut publié suite à une étude du groupe MULTIVIRC à Paris (5). Brièvement, il s'agit d'une étude de 339 patients avec hépatite C, après exclusion des patients avec coinfection, transplantation ou non classifiables. Les patients furent divisés en deux groupes, un groupe de 205 patients pour une première analyse et un groupe de validation de 134 patients. Tous ces patients subirent une biopsie hépatique et les résultats de celle-ci furent comparés aux réponses à un questionnaire de 129 items cliniques de même qu'à la mesure de 12 paramètres biochimiques (alpha 2-macroglobuline, AST, ALT, GGT, bilirubine totale, albumine, alpha 1-globulines, alpha 2-globulines, bêta-globulines, gammaglobulines, apolipoprotéine A1 et haptoglobine). À l'aide d'une régression logistique, un indice combinant cinq de ces marqueurs de même que l'âge et le sexe des patients fut élaboré pour donner naissance au test MULTIVIRC. Les paramètres choisis furent l'alpha 2-macroglobuline, l'apolipoprotéine A1, la bilirubine totale, la GGT et l'haptoglobine. La puissance diagnostique de cet indice fut ensuite mise à l'épreuve à l'aide du groupe de validation, ce qui donna des résultats fort satisfaisants (aire sous la courbe ROC de 0,85). En effet, en utilisant un score de 0,2 (celui-ci variant de 0 à 1), les auteurs ont calculé une

sensibilité de 92 % et une spécificité de 46 %, ce qui correspond à une valeur prédictive positive (VPP) de 58 % et à une valeur prédictive négative (VPN) de 87 % pour une prévalence de fibrose de 45 %. D'autre part, un score de 0,8 est associé à une sensibilité de 38 % et à une spécificité de 97 %, ce qui donne une VPP de 92 % et une VPN de 62 %.

Tableau 1

Variables cliniques et de laboratoire incluses dans l'étude SYDNEY (Extrait de *Hepatology* 2004;39:1239-47).

* Indice AST/plaquettes

† Résistance à l'insuline par le " homeostasis model assessment "

Clinique	Âge à la biopsie, sexe, lieu de naissance, ethnique, âge à l'infection, durée de l'infection, facteur de risque pour acquérir une infection HCV, utilisation d'antioxydants, consommation d'alcool courante et passée, ratio taille/hanche, indice de masse corporelle, stigmates d'hépatopathie, et présence d'hépatomégalie.
Laboratoire	Test de fonction hépatique (ALT, AST, ratio AST/ALT, CGT, albumine, globulines, bilirubine, et INR), plaquettes, APRI*, glucose, insuline, peptide C, HOMA-IR†, cholestérol total, vitamine E, glutathion, ferritine, et anticorps anti-HBc.
Facteurs viraux	Génotype du HCV et concentration en HCV RNA

En résumé, 119 patients (dont 13 faux négatifs) ont obtenu un score inférieur à 0,2 et auraient ainsi pu éviter une biopsie hépatique étant donné leur faible probabilité de fibrose hépatique significative. Par ailleurs, 50 patients (dont 5 faux positifs) ont obtenu un score supérieur à 0,8 et auraient aussi pu éviter une biopsie hépatique étant donné leur probabilité élevée de fibrose hépatique significative. Près de la moitié des biopsies auraient donc pu être évitées en utilisant le test MULTIVIRC. Différentes équipes vont par la suite réussir à reproduire ces résultats. Cependant la plupart de celles-ci étaient associées d'une manière ou d'une autre à l'équipe originale (6). Une seule équipe (7), qui se distingue par son impartialité, a obtenu des performances qui ne justifient pas un usage clinique du MULTIVIRC : aire sous la courbe ROC égale à 0,74 et VPN de 83 % et VPP de 79 % à des scores de 0,2 et 0,8 respectivement versus VPN de 87 % et VPP de 92 % dans l'étude originale. Plusieurs hypothèses ont été suggérées pour expliquer la moins bonne performance mise en évidence par le groupe de Rossi et al. (7) dont le fait que les instruments utilisés n'étant pas les mêmes (Beckman Immage vs

Dade Behring BNII), les résultats d'analyse pouvaient varier significativement. Des différences intrinsèques dans les populations étudiées ont aussi été évoquées.

Quoiqu'il en soit, le MULTIVIRC est certainement le test de fibrose hépatique le plus validé. De plus, il demeure techniquement simple, présentant l'originalité d'intégrer l'information générée par cinq analyses relativement peu complexes. Enfin, pour ajouter à la controverse, notons que le groupe n'a jamais publié sa formule de calcul et utilise un site web (www.biopredictive.com) commercial pour la vente du MULTIVIRC (nom commercial FibroTest).

LE SYDNEY

Le test de Sydney (8) découle d'une étude de 176 patients infectés par le virus de l'hépatite C ainsi que d'un groupe de validation de 126 patients (également infectés). Étaient exclus les patients coinfectés par des virus hépatotropes ou le VIH, de même que les patients diabétiques insulinotraités. Tous les patients subirent une biopsie hépatique utilisée comme étalon-or. Trente-cinq paramètres cliniques et de laboratoire furent étudiés (Tableau 1). Parmi ceux-ci, 18 s'avèrent statistiquement liés à la fibrose en analyse univariée. Une analyse multivariée (régression logistique) de ces 18 paramètres en mit cinq en relief, soient l'AST, l'âge, l'HOMA-IR (un marqueur de la sensibilité à l'insuline), la consommation d'alcool et la cholestérolémie. Un indice élaboré à partir de ces paramètres présentait une performance comparable à celle des autres tests de fibrose hépatique (aire sous la courbe ROC de 0,77). En utilisant un score de 0,2, les auteurs ont calculé une sensibilité de 85 % et une spécificité de 48 %, ce qui correspond à une VPP de 70 % et une VPN de 69 % pour une prévalence de fibrose de 59 %. D'autre part, un score de 0,8 est associé à une sensibilité de 42 % et une spécificité de 98 %, ce qui donne une VPP de 97 % et une VPN de 54 %. L'originalité du test tient à l'inclusion d'un marqueur de résistance à l'insuline (non sans rappeler le NASH) et à la combinaison de marqueurs cliniques et de laboratoire auxquels une même importance était attribuée dans l'analyse statistique.

LE BARCELONA

Ce test est issu d'une étude de 351 patients infectés par le virus de l'hépatite C et d'un groupe de validation de 125 patients (aussi infectés) dont les critères d'exclusion étaient : âge > 65 ans, une consommation régulière d'alcool, une obésité morbide, une coinfection (hépatite ou VIH), une cirrhose établie, un statut post-

Tableau 2

Paramètres inclus dans l'étude BARCELONA (Extrait de *Hepatology* 2002;36:986-92).

Paramètres
Âge
Sexe
AST
ALT
GGT
Bilirubine
Glucose
Cholestérol
Albumine
Leucocytes
Plaquettes
Temps de prothrombine
Charge virale
Génotype HCV

transplantation ou un traitement antérieur avec de l'interféron (9). Tous les patients subirent une biopsie hépatique. Quatorze paramètres furent étudiés (Tableau 2) et quatre furent retenus en analyse multivariée soient l'âge, la GGT, la cholestérolémie et les plaquettes. Bien qu'encore une fois la performance de cet indice soit comparable à celle des autres (Tableau 3), le principal atout du test Barcelona demeure son incroyable simplicité, utilisant uniquement des tests de routine.

L'ELF

Il s'agit d'un marqueur issu d'une étude de 400 patients et d'un groupe de validation de 521 patients (10). Tous ces patients s'étaient présentés afin de subir une biopsie hépatique dans le cadre du suivi ou du diagnostic d'une hépatopathie chronique (donc pas seulement des patients avec hépatite C). Les critères d'exclusion étaient la présence de maladies associées à de la fibrose autre qu'hépatique, un cancer ou une maladie cardiovasculaire, la consommation d'aspirine, une cirrhose connue ou une maladie hépatique secondaire à la prise de médicaments. Neuf marqueurs de fibrose hépatique furent analysés soient : le collagène de type 4, le collagène de type 6, la partie N-terminale du pro-peptide du collagène de type 3, la métalloprotéinase 2, la métalloprotéinase 9, l'inhibiteur de la métalloprotéinase 1, la

Tableau 3

Exactitude de la méthode BARCELONA dans le groupe de validation (n = 125); prévalence de fibrose significative à 26 % (Extrait de *Hepatology* 2002;36:986-92).

Abréviations : S : sensibilité; Sp : spécificité; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative; LR : rapport de vraisemblance (likelihood ratio).

Score limite	Exactitude					Population impliquée	Interprétation
	S	Sp	VPP	VPN	LR		
< 4,2	0,94	0,51	0,40	0,96	1,9	39 %	Absence de fibrose (certitude de 96 %)
> 6,9	0,30	0,95	0,66	0,80	6	12 %	Présence de fibrose (certitude 66 %)

Tableau 4

Performance de l'algorithme ELF en fonction de différentes maladies hépatiques
(Extrait de Gastroenterology 2004;127:1704-13).

Abréviations : NAFLD : non-alcoholic fatty liver disease; ALD : alcoholic liver disease; IC : intervalle de confiance

Groupe de validation	Aire sous la ROC	Écart-type	P	IC 95 % de l'aire sous la courbe
Hépatite C	0,773	0,0386	< 0,0001	0,697 - 0,848
NAFLD	0,870	0,1040	0,002	0,666 - 1,000
ALD	0,944	0,0555	< 0,0001	0,836 - 1,000

tenascine, la laminine et l'acide hyaluronique. Il s'agit donc de neuf marqueurs directement impliqués dans la pathophysiologie de la fibrose hépatique. Tous ces dosages sont la propriété exclusive de la compagnie Bayer qui est d'ailleurs le commanditaire de cette étude.

Par une méthode statistique non dévoilée, les auteurs ont élaboré un algorithme (dont la formule est néanmoins publiée) utilisant la partie N-terminale du pro-peptide du collagène de type 3, l'inhibiteur de la métalloprotéinase 1 et l'acide hyaluronique. Les performances de cet algorithme sont présentées dans les Tableaux 4 et 5. Remarquons que sa puissance diagnostique est similaire aux autres indices en ce qui a trait à l'hépatite C. Par ailleurs, son originalité tient non seulement à l'utilisation de marqueurs directement impliqués dans le processus de fibrose mais aussi de l'inclusion de pathologies autres que l'hépatite C (avec des résultats étonnants malgré le nombre restreint de sujets).

UNE CURIOSITÉ BIOCHIMIQUE

Le dernier test présenté se distingue des autres par la nature innovatrice – et complexe – des dosages effectués (11). En effet, il s'agit de la première application pratique de la « glycomique », c'est-à-dire de l'étude de l'ensemble des N-glycanes issus des glycoprotéines sériques. Les auteurs ont préalablement développé une technique afin d'isoler et de purifier les N-glycanes pour ensuite quantifier les différentes fractions en utilisant l'électrophorèse capillaire (à l'aide d'un protocole modifié utilisant un séquenceur à ADN d'Applied Biosystems). La justification pour tester l'utilité clinique de ce protocole dans le cadre de la fibrose hépatique comporte deux volets : premièrement, la majorité des glycoprotéines sont synthétisées par le foie et deuxièmement le foie est responsable de la clairance des glycoprotéines anormalement glycosylées. Quatorze pics de glycanes furent identifiés à l'électrophorèse et il fut déterminé que le ratio entre deux de ces pics donnait le meilleur rendement diagnostique avec une aire sous la courbe ROC de 0,87. De manière intéressante, les auteurs expliquent ces résultats par une surexpression de la N-acétylglucosaminyl-transférase III dans le foie cirrhotique de même qu'à une sous-galactosylation des glycoprotéines sériques secondaire à leur clairance hépatique aberrante. En effet, les glycoprotéines, dont les N-glycanes, pauvres en galactose sont normalement éliminées par un récepteur spécifique au niveau du foie, d'où une accumulation des glycoprotéines sériques sous-galactosylées lors d'insuffisance hépatique.

DISCUSSION

Dans l'ensemble, les marqueurs de fibrose hépatique comportent de nombreuses caractéristiques qui les rendent dignes de mention. En effet, ils représentent un changement de paradigme important quant à l'interprétation des tests de laboratoire. Au lieu de suivre le schéma habituel d'interprétation basé sur les intervalles de référence correspondant aux 2,5^e et 97,5^e percentiles d'une population « normale », ils tirent le maximum d'information des dosages même si les valeurs individuelles des tests se situent à l'intérieur des valeurs de référence. De plus, la combinaison de plusieurs tests, individuellement peu sensibles et spécifiques, permet l'obtention d'indices diagnostiques performants. Par ailleurs, la relative simplicité de ces tests est à souligner puisqu'elle laisse entrevoir un rapport coût-bénéfice fort avantageux.

D'autre part, il est remarquable que ces différents indices présentent des performances somme toute similaires. Serait-il possible que ces indices aient atteint un « plafond » d'efficacité diagnostique ? Cette notion, peut-être farfelue au premier abord, prend tout son sens lorsqu'on connaît la variabilité de la biopsie hépatique elle-même, test de référence auquel tous ces indices sont comparés. Effectivement, il a récemment été démontré que le stade de fibrose peut varier (d'au moins un stade) chez 30 % des patients simplement à cause d'une différence d'échantillonnage (12), et ce, sans compter la variation intra- et interpathologistes. Dans ce contexte, il serait surprenant d'obtenir des performances de beaucoup supérieures à celles obtenues présentement et la possibilité que le rendement diagnostique des indices de fibrose soit « plafonné » devient bien réelle.

Par ailleurs, plusieurs pièges guettent les utilisateurs de ces indices multiparamétriques. Le premier est le manque de données sur la variabilité intra-individuelle de ces marqueurs. De fait, au meilleur des connaissances de l'auteur, aucune étude n'a vérifié la variabilité de ces indices chez des patients atteints d'hépatopathies. De plus, la variabilité interlaboratoires constitue un piège redoutable puisque ces tests ont été conçus pour une standardisation et une méthode spécifiques. Il semble donc hasardeux d'appliquer une de ces formules sans égard aux méthodes de laboratoire employées. D'autre part, bien que l'utilisation de marqueurs « de routine » comporte de nombreux avantages (par exemple le coût), ces marqueurs ont bien souvent la caractéristique d'être non spécifiques, ce qui les rend sujets à de nombreuses influences. Ainsi, comment peut-on interpréter, dans un contexte de fibrose hépatique, la cholestérolémie d'un patient obèse ou l'haptoglobine d'un patient avec une hémolyse auto-immune ?

Tableau 5

Sensibilité et spécificité de l'algorithme ELF pour les patients du groupe de validation
(Extrait de Gastroenterology 2004;127:1704-13).

Abréviations : NAFLD : non-alcoholic fatty liver disease; ALD : alcoholic liver disease; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative

Maladie	Score	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
Hépatite C	0,063	95	29	27,7	94,9
	0,067	90	31	27,5	92,3
	0,090	85	43	29,9	91,1
	0,126	80	58	35,2	91
	0,190	63	80	47,9	88,5
	0,219	52	85	50	86,2
	0,268	47	90	57,8	85,6
	0,426	38	95	70	84,3
NAFLD	0,564	30	99	89,5	83,3
	0,375	89	96	80	98
ALD	0,462	78	98	87	96
	0,087	100	16,7	75	100
	0,431	93,3	100	100	85,7

Enfin, la prudence est de mise lors de la lecture de ces études. En effet le lecteur attentif aura vite fait de remarquer le nombre impressionnant de combinaisons possibles lorsqu'il s'agit d'élaborer un indice comportant un nombre variable de paramètres sur un total de 10, 20 voir même 35 paramètres potentiels. Ces études doivent donc impérativement être validées de manière indépendante avant d'en tirer des conclusions.

CONCLUSION

Les indices de fibrose hépatique constituent dans leur ensemble une avenue intéressante qui peut-être trouvera un jour une place en clinique. Néanmoins, la prudence est de mise dans leur utilisation et il apparaît primordial de valider leur performance dans un contexte local (population, méthodes de dosage, résultats de la pathologie) avant de penser à les appliquer à grande échelle. Pour ce qui est des indices eux-mêmes, disons simplement qu'aucun ne se démarque clairement en termes de performance, mais que le MULTIVIRC a été plus étudié que les autres. Cependant, il a le désavantage unique d'avoir une formule mathématique tenue secrète pour laquelle il faut payer à chaque utilisation.

Pour l'avenir, une unification de ces tests serait souhaitable. En effet, ces indices ont été élaborés en testant des paramètres biochimiques différents lors de chaque étude. Il serait donc intéressant de concevoir un indice utilisant les meilleurs paramètres de chacune des études. De plus, dans la mesure où l'important est d'offrir les meilleurs soins aux patients, la collaboration entre la pathologie et la biochimie est essentielle. De fait, le coût, tant humain que financier, des traitements antiviraux (de même que leur bénéfice potentiel) fait en sorte que la classification la plus juste possible des patients (selon qu'ils doivent ou non recevoir des traitements) devrait être la priorité absolue. Il ne s'agit pas de savoir si l'on peut éviter une biopsie hépatique ou non, il s'agit de savoir si l'on doit être traité ou non, et ce, parce que les risques d'être traité (ou de ne pas l'être) sont

beaucoup plus grands que ceux de la biopsie. Des études prospectives, évaluant à la fois les résultats de la biopsie et ceux du laboratoire, sont donc nécessaires afin de déterminer avec précision le pronostic des patients ainsi que leur réponse potentielle aux médicaments.

RÉFÉRENCES

1. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Paris, 26-28, February 1999, Consensus Statement. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 1999;30:956-61.
2. Poynard T, Ratzu V, Benmanov Y, Di Martino VD, Bedossa P, Opolon P. Fibrosis in patients with chronic hepatitis C: detection and significance. *Semin Liver Dis* 2000;20:47-55.
3. 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.
4. Poynard T, Ratzu V, Bedossa P. Appropriateness of liver biopsy. *Can J Gastroenterol* 2000;14:543-8.
5. Imbert-Bismut F, Ratzu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001;357:1069-75.
6. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, Myers RP, Thabut D et al. Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comp Hepatol* 2004;3:8.

7. Rossi E, Adams L, Prins A, Bulsara M, de Boer B, Garas G et al. Validation of the FibroTest biochemical markers score in assessing liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clin Chem* 2003;49:450-4.
8. Sud A, Hui JM, Farrell GC, Bandara P, Kench JG, Fung C et al. Improved prediction of fibrosis in chronic hepatitis C using measures of insulin resistance in a probability index. *Hepatology* 2004;39:1239-47.
9. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002;36:986-92.
10. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004;127:1704-13.
11. Callewaert N, Vlierberghe H, Van Hecke A, Laroy W, Delanghe J, Contreras R. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics. *Nat Med* 2004;10:429-34.
12. Siddique I, El-Naga HA, Mada JP, Memon A, Hasan F. Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:427-32.

ABRÉVIATIONS

ALT	alanine aminotransférase
AST	aspartate aminotransférase
GGT	gamma-glutamyl-transpeptidase
HCV	virus de l'hépatite C
HOMA-IR	homeostasis model assessment insulin resistance
INR	rapport normalisé international (temps de prothrombine)
NASH	non-alcohol-induced steatohepatitis
ROC	receiver operating characteristic
VIH	virus de l'immunodéficience humaine
VPN	valeur prédictive négative
VPP	valeur prédictive positive