

VİRAL ETİYOLOJİLİ KRONİK KARACİĞER HASTALARINDA KARACİĞER FİBROZİSİ İÇİN BİYOKİMYASAL GÖSTERGELER

Gupse KÖROĞLU*, Kadir DEMİR*, Atilla ÖKTEN*, Sabahattin KAYMAKOĞLU*,
Alper AKSÖZEK**, Sadakat ÖZDİL*, Filiz AKYÜZ*, Ahmet DANALIOĞLU*,
Zeki AYDIN*, Fatih BEŞİŞİK*, Güngör BOZTAŞ*, Zeynel MÜNGAN*,
Uğur ÇEVİKBAŞ***, Yılmaz ÇAKALOĞLU*

ÖZET

Karaciğer biyopsisi, kronik karaciğer hastalığının tanısında altın standarttır. Ancak biyopsinin invaziv bir işlem olması, karaciğer fibrozisini yansıtan noninvaziv biyokimyasal göstergelerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Çalışmamızın amacı, viral etiyojili kronik karaciğer hastalığında serum hyaluronat ve prokollajen III N-terminal peptid (PIIINP) düzeylerinin karaciğer fibrozisini göstermedeki tanısal doğruluğunu saptamaktır. Çalışmaya viral etiyojili 183 kronik hepatitli hasta alındı (112 erkek, ortalama yaş 44.4 ± 13.7 yıl) ve hepsine karaciğer ponksiyon biyopsisi ve/veya laparoskopi yapıldı. ROC eğrileri ile hesaplandığında "the area under the receiver operating characteristic (AUROC)" değerleri, sirozu göstermede hyaluronat için 0.892 ± 0.027 , PIIINP için 0.658 ± 0.048 olarak bulundu. İleri fibrozisi (F3-F4) saptamada tanısal doğruluk oranları hyaluronat için (eşik değer 60 ng/ml) %76, PIIINP için (eşik değer 6.4 µg/l) %53.7, sirozu saptamada tanısal doğruluk oranları hyaluronat için (eşik değer 100 ng/ml) %75.2, PIIINP için (eşik değer 6.4 µg/l) %60.5 saptandı. Sonuçlarımız serum hyaluronat düzeylerinin viral etiyojili karaciğer sirozunun veya ileri fibrozisinin tanısında noninvaziv bir gösterge olarak kullanılabileceği düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Kronik karaciğer hastalığı, karaciğer fibrzisi, hyaluronat, prokollajen III N-terminal peptid.

SUMMARY

Biochemical markers of liver fibrosis in patients with chronic viral liver disease. Liver biopsy is the gold standard for the diagnosis of chronic viral liver disease. Because liver biopsy is an invasive procedure, development of noninvasive biochemical markers reflecting liver fibrosis is a necessity. The aim of our study is to determine the diagnostic accuracy of serum hyaluronat and procollagen III N-terminal peptide (PIIINP) levels for the evaluation of liver fibrosis in chronic viral liver disease. 183 chronic hepatitis patients with viral etiology were included in our study (112 male, mean 44.4 ± 13.7 year) and liver biopsy and/or laparoscopy were done in each. When the values of "the area under the receiver operating characteristic (AUROC)" were calculated, they were found to be 0.892 ± 0.027 for hyaluronat and 0.658 ± 0.048 for PIIINP in seperence cirrhosis. The diagnostic accuracy of serum hyaluronate and PIIINP for severe fibrosis (F3-F4) were 76% (cut-off value, 60 ng/ml) and 53.7% (cut-off value, 6.4 µg/l) and for cirrhosis were 75.2% (cut-off value, 60 ng/ml) and 60.5% (cut-off value, 6.4 µg/l) respectively. According to our results, it should be considered that serum hyaluronat levels may be used as a noninvasive marker for diagnosis of chirrosis or severe fibrosis in viral liver disease.

Key words: Chronic liver disease, liver fibrosis, hyaluronat, procollagen III N-terminal peptide.

GİRİŞ

Karaciğer sirozunun tanısında altın standart karaciğer ponksiyon biyopsisidir (1,2). Ancak, biyopsi invaziv bir işlemdir. Hastaların yaklaşık %20'sinde biyopsi sonrası orta düzeyde rahatsızlık (3) ve %0.3-0.5' inde de kanama gibi ciddi komplikasyonlar görülebilmektedir (3,4). Serilerde mortalite oranı %0-%0.1 arasında bildirilmektedir (4,5). Bunun yanı sıra karaciğer biyopsisinde örnekleme hatası ve patoloğa bağlı karaciğer fibrozisi derecesinin yorumunda farklılıklar da görülebilmektedir. Bu nedenlerle, biyopsi yerine kullanılabilir; basit, ucuz ve güvenilir noninvaziv tanı yöntemleri geliştirilmesine gereksinim duyulmaktadır. Son yıllarda bu konuda yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur (6-13). Özellikle hyaluronat ve prokollajen III N-terminal peptid (PIIINP) düzeylerinin karaciğerde artmış fibrojenesi yansıttığını gösteren birçok çalışma yapılmıştır (13-23). Literatürde yer alan çalışmaların çoğu alkole veya hepatit C'ye bağlı kronik karaciğer hastalığı olan vakaları kapsamaktadır. Sadece viral etiyojili hastaları kapsayan çalışma sayısı kısıtlıdır.

Bu çalışmada, sadece viral etiyojili bir hasta grubunda, karaciğerde fibrozis evresi ile serum hyaluronat ve PIIINP düzeyleri arasındaki ilişki ve bu göstergelerin tanısallık doğruluk oranları araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Hastalar

İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenterohepatoloji Bilim Dalı Servisinde Ocak 2001 ve Mayıs 2002 tarihleri arasında biyopsi veya laparoskopi (hemorajik diyatez nedeniyle) yapılan 409 hasta değerlendirildi. Hastaların biyopsi veya laparoskopi öncesinde anamnezleri alınıp, fizik muayeneleri yapıldı. Hastaların yaş, cins, beden kitle indeksi (BKI), alkol-toksik mad-

de anamnezleri ile palmar eritem, karaciğer dili, çomak parmak, arteriyel örümcek, portal tipte kollateral varlığı, karaciğerin ve dalığın palpasyon bulguları ile asit ve hepatik ensefalopati varlığı kaydedildi. Hepatosteatoz ve steatohepatit, toksik hepatit, granümatöz hepatit, oto-immun hepatit, kolestatik karaciğer hastalığı, alkolik karaciğer hastalığı, Wilson hastalığı, alfa 1 antitripsin eksikliği ve hemakromatozise bağlı karaciğer hastalığı olanlar ile karaciğer veya diğer organ transplantasyonu yapılanlar, nefropatisi olanlar, primer veya metastatik karaciğer kanserli hastalar, konjestif kalp yetersizliği olanlar çalışmaya alınmadı. Viral etiyojili olmasına rağmen son 6 ay içinde interferon veya herhangi bir antifibrotik ilaç alanlar çalışma dışı bırakıldı. Değerlendirilen hastalardan kronik B, C veya D hepatitli 15-78 yaş arası 183 hasta çalışma kapsamına alındı. Tespit edilen virolojik etken hastaların 110'unda hepatit B, 61'inde hepatit C, 2'sinde hepatit B+C ve 10'unda da hepatit B+D virüsü idi.

Biyokimyasal Değerlendirme

Kan örnekleri biyopsi veya laparoskopinin yapıldığı gün alındı. Serum ayrıldıktan sonra bir kısmı hyaluronat ve PIIINP düzeyleri çalışılmak üzere -85°C'de saklandı. Standart laboratuvar testleri [glukoz, kreatinin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), γ -glutamil transpeptidaz (GGT), alkalen fosfataz (ALP), trigliserit, kolesterol, bilirubinler, albumin, γ -globulin] Moduler sistem DPP (Roche-Japonya) otomasyon sisteminde çalışıldı. Tam kan sayımı (hemogram) ölçümü, Sysmex XE-2100 (Roche) cihazı kullanılarak yapıldı. Protrombin indeksi STAGO ST4 (Fransa) koagülometri cihazı kullanılarak tayin edildi. HBsAg (Sanofi Pasteur Diagnostic), anti HCV (United Biomedical Inc.), anti delta total Organon ticari kitleri kullanılarak ELISA ile test edildi. Hyaluronat düzeyleri

ELISA (Corgenix HA Test Kit) ile tayin edildi (Referans aralığı=0-75 ng/ml). PIIINP düzeyleri RIA (Orion Dignostica PIIINP RIA Kit) ile çalışıldı (Referans aralığı=2.3-6.4 µg/l).

Histolojik Değerlendirme

Karaciğer ponksiyon biyopsi örnekleri formalin ile fikse edildi, hematoksilin-eozin boyası ile aktivitesi yönünden ve "Masson's trichrome" boyası ile fibrozis skoru açısından tek bir patoloğ tarafından değerlendirildi. Metavir skoruna göre fibrozis derecesi belirlendi (28). Knodell aktivite kriterlerine uygun aktivite skoru belirlendi (29). Fibrozis, F0'dan F4'e kadar şu şekilde evrelendirildi: F0=fibrozis yok, F1=genişlemiş portal alan, septa yok, F2=genişlemiş portal alan, az sayıda septa, F3=genişlemiş portal alan, belirgin septa, siroz yok ve F4=siroz. Karaciğer biyopsisinin kontrendike olduğu ve sirozu klinik olarak saptanan 29 hastanın tanısı laparoskopi ile kesinleştirildi. Hastalar evrelerine göre iki farklı biçimde değerlendirildi. Öncelikle F0-F4 arası 5 grupta, sonra tedaviye yamıt ve prognoz farklılığı gösterdikleri için erken evre (F1-F2) ve ileri evre (F3-F4) olarak karşılaştırıldı.

İstatistik Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS for windows 10.0" paket programı kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler iki grup için gruplar arasında eşlenmemiş t-testi ile değerlendirildi. İki grup arasında söz konusu ise "one-way ANOVA, Tukey-b" test ile yapıldı. Kategorik değerlere "chi-square" testi ve yerine göre "Fisher exact" test modifikasyonu uygulandı. Hyaluronat ve PIIINP'nin ileri karaciğer fibrozunu (F3-F4) göstermedeki yeterliliği "the area under the receiver operating characteristic (AUROC)" ile hesaplandı, yine testler için "cutoff" değerleri AUROC kullanılarak belirlendi. Tüm değerler arasındaki korelasyon yerine göre "Pearson" ve "Spearman" testleri ile değerlendirildi. Deskriptif istatistikler ortalama±standart sapma (SD) olarak sunuldu. Tüm testlerde P değeri <0.05 ise anlamlı olarak yorumlandı.

SONUÇLAR

Çalışmaya alınan 183 hastanın 112'si (%61.2) erkek olup, ortalama yaşları 44.4±13.7 yıl (15-78) idi. Hastaların fibrozis göstergeleri, fibrozis evrelerine göre 5 grupta karşılaştırılmıştır (Tablo 1). Hyaluronat

Tablo 1. Fibrozis göstergelerinin evrelere göre karşılaştırılması*

	F 0	F 1	F 2	F 3	F 4	P
Hasta sayısı (n)	33	36	24	37	53	
Yaş (yıl)	38.5±13.7	38.2±14.7	45.0±12.9	46.9±11.9	50.2±12	<0.001
Hyaluronat (ng/ml)	60.3±43.9	66.5±58.6	69.9±82.7	211.1±201	427.7±247	<0.001
PIIINP (µg/l)	5.9±0.5	6.6±0.4	5.4±0.4	7.6±0.6	11.1±1.9	0.001
Protrombin indeks (%)	91.8±11.3	90.7±11.8	85.3±11.6	84.8±13.4	75.1± 19.9	<0.001
GGT (U/l)	47.9±44.4	36.6±25.6	60.6±42.6	94.7±95.5	96.1±87.1	<0.001
AST / ALT oranı	0.77±0.35	0.63±0.23	1.01±1.1	0.70±0.25	1.06±0.52	0.001
Γ-globulin (g/dl)	1.4±0.5	1.5±0.4	1.7±0.4	1.6±0.5	2.1±0.8	<0.001
Trombosit (10 ³ /mm ³)	208±59	200±41	193±42	167±60	121±76	<0.001

* One-Way ANOVA testi

düzeyleri F4'de F3'den, F3'de F2, F1 ve F0'dan anlamlı yüksek bulundu ($p<0.001$). PIIINP düzeyleri F2'de F4'den anlamlı olarak düşük idi ($p<0.001$). Hastaların erken evre (F0-F2) ve ileri evre (F3-F4) olarak iki grupta demografik ve biyokimyasal değerleri karşılaştırılmıştır (Tablo 2). Yaş, hyaluronat, PIIINP, GGT ve γ -globulin düzeyleri fibrozis olmayan veya hafif fibrozis bulunan gruba göre, ileri fibrozis olanlarda anlamlı derecede artmış idi. Protrombin indeks ve trombosit düzeyleri fibrozis olmayan veya hafif fibrozis bulunan gruba göre, ileri fibrozis olanlarda anlamlı derecede azalmış idi.

Serum PIIINP ve hyaluronat düzeylerinin fibrozis evresiyle karşılaştırılması Şekil 1'de gösterilmiştir. İleri evrede PIIINP ve hyaluronat düzeyleri diğer evrelerden anlamlı olarak yüksek idi ($p<0.0001$).

Sirozu göstermek için ROC eğrileri çizildi. Hyaluronat ve PIIINP düzeylerinin sirozu göstermede AUROC "the area under the receiver operating characteristic" değerleri anlamlı bulundu. AUROC değerleri hyaluronat için 0.892 ± 0.027 , PIIINP için 0.658 ± 0.048 olarak bulundu (Şekil 2). Serum hyaluronat düzeyleri ile fibrozis evreleri ve PIIINP düzeyleri ile fibrozis evreleri arasında

anlamlı pozitif korelasyon ($p<0.001$) saptandı.

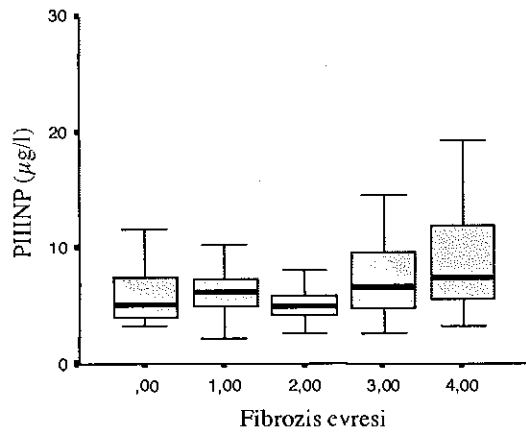
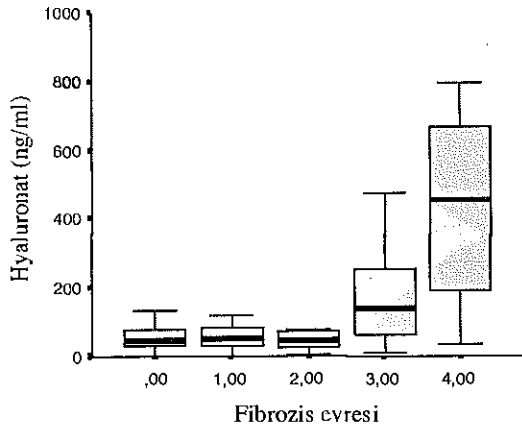
Hyaluronat ve PIIINP için ROC eğrilerinde elde edilen eşik değerler dikkate alınarak yapılan değerlendirmeler ile testlerin duyarlılıkları, özgüllükleri, pozitif ve negatif prediktif değerleri ve doğruluk dereceleri hesaplandı (Tablo 3-4).

TARTIŞMA

Günümüzde karaciğerde fibrozisin derecesini değerlendirmede karaciğer ponksiyon biyopsisi altın standarttır. Ancak biyopsi invaziv bir işlemdir, özellikle kanama diyatezi olan hastalarda biyopsi yapılamamaktadır. Aynı zamanda örnekleme veya yorum hatası olabilmekte ve siroz tanısında yalancı negatiflik oranı %20'lere varabilmektedir⁽³⁰⁾. Bu nedenle son yıllarda karaciğerde fibrozisi göstermek için çok sayıda noninvaziv göstergeler geliştirilmektedir^(11,24,25). Bunların hepsi ya artan ekstraselüler matriks proteinlerinin yapımını ya da azalan yıkımını bizlere gösterir. En iyi bilinenler ve birçok çalışmada karaciğer fibrozisi için iyi bir gösterge olarak kabul edilenler; serum hyaluronat, PIIINP düzeyleri ve PGA veya PGAA skorla-

Tablo 2. Erken evre fibrozis (F0-F2) ile ileri evre fibrozis (F3-F4) olan hasta gruplarının demografik ve biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması

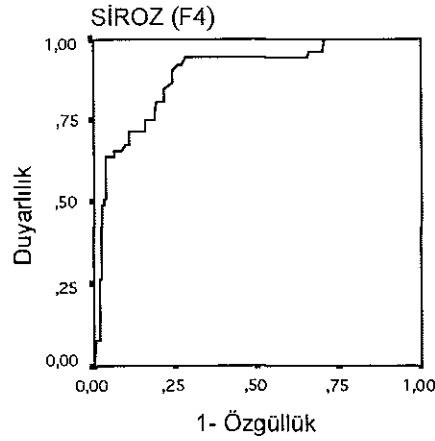
	F0 / F1 / F2	F3 / F4	P
Hasta sayısı (n)	93	90	
Yaş (yıl)	40.0 ± 13.8	48.9 ± 12.0	<0.001
Cins (E/K)	54 / 39	58 / 32	0.23
Hyaluronat (ng/ml)	65.2 ± 60.9	337 ± 253	<0.001
PIIINP (µg/l)	6.6 ± 3.1	11.1 ± 13.6	0.001
Protrombin indeks (%)	89.0 ± 12.3	79.2 ± 18.0	<0.001
GGT (U/l)	46.9 ± 38.5	95.5 ± 90.1	<0.001
γ -globulin (gr/dl)	1.5 ± 0.4	1.9 ± 0.7	<0.001
Trombosit ($10^3/mm^3$)	201.1 ± 48.8	140.4 ± 73.6	<0.001



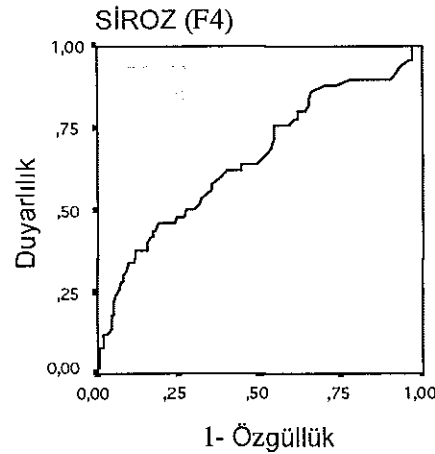
Şekil 1. Serum hyaluronat ve PIIINP düzeylerinin evrelere göre karşılaştırılması

dır (6,16,23). Çalışmamızda, viral etiyojiye bağlı kronik karaciğer hastalığı olan vaka grubunda, fibrozis göstergeleri ile histolojik evre arasındaki ilişki değerlendirildi.

Çalışmamızda ileri fibrozisi (F3-F4) olan grubun serum hyaluronat düzeyleri, fibrozis olmayan veya hafif fibrozisi (F0-F2) olan grubun serum hyaluronat düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). Hyaluronat ile fibrozis evreleri arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r = 0.491$, $p < 0.001$). Hyaluronat için eşik değer 60 ng/ml olarak alındığında, ileri fibrozis belirlemede duyarlılığı %87.8, özgüllüğü %65.5, pozitif prediktif değeri %70.5, negatif prediktif değeri %84.5 ve doğruluk derecesi %76 olarak saptandı. Eşik değer 100 ng/ml alındığında sirozu belirlemede duyar-



Hyaluronat için ROC eğrisi



PIIINP için ROC eğrisi

Şekil 2. Sirozu göstermede hyaluronat ve PIIINP değerleri (ROC eğrileri)

lılığı %94.3, özgüllüğü %67.4, pozitif prediktif değeri %54.3, negatif prediktif değeri %96.7 ve doğruluk derecesi %75.2 idi. Oberti ve arkadaşlarının (6) yaptıkları çalışmada viral etiyojili karaciğer hastalığında hyaluronatm, ileri fibrozis göstermede, eşik değer 60 µg/l alındığında; doğruluk derecesi %87, duyarlılık %97 ve özgüllük %73 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada hyaluronatm siroz tanısı koymadaki doğruluk derecesi, alkolik grupta %86, viral grupta %83 olarak bildirilmiştir. Murawaki ve arkadaşlarının (10) kronik C hepatitli hastaları içeren çalışmasında, hyaluronatm eşik değer 50 ng/ml alındığında, > evre 2 fibrozis göstermede du-

Tablo 3. Karaciğer sirozunu göstermede eşik değerler ve bu değerlerdeki duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değeri (PPD), negatif prediktif değeri (NPD) ve tanısal doğruluk oranları*

	Eşik Değer	P*	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğruluk (%)
Hyaluronat (ng/ml)	100	0.001	94.3	67.4	54.3	96.7	75.2
PIIINP (µg/l)	6.4	0.001	62	60	38.2	79.7	60.5

* "Chi-square" testi ile

Tablo 4. Karaciğerde ileri fibrozisi göstermede eşik değerler ve bu değerlerdeki duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değeri (PPD), negatif prediktif değeri (NPD) ve tanısal doğruluk oranları *

	Değer	P*	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğruluk (%)
Hyaluronat (ng/ml)	60	0.001	87.8	65.5	70.5	84.5	76
PIIINP (pg/l)	6.4	0.001	57.6	64.4	60.4	61.7	53.7

* "Chi-square" testi ile

yarlılığı %75, özgüllüğü %80; eşik değer 60 ng/mL alındığında da duyarlılığı %77, özgüllüğü %74 bulunmuştur.

Bu sonuçlar ile çalışmamızdaki sonuçlar uyumludur, fakat çalışmamızda değerlendirilen eşik düzeylerinin hiçbirinde hyaluronat için ileri fibrozis veya sirozu göstermede doğruluk derecesi %80 üzerinde bulunmamıştır. Bu da hasta grubunun sadece viral etiyojili hastaları kapsamı ve alkolik hastaların çalışma dışında tutulması ile açıklanabilir. Hyaluronatm sirozu göstermedeki etkinliği ROC eğrileri ile değerlendirildiğinde, eğri altında kalan alan 0.892 ± 0.027 olarak hesaplandı ve literatür ile uyumlu bulundu (5,27). Bu da hyaluronatm tarama testi olarak kullanılabilmesi görüşünü desteklemektedir.

PIIINP düzeyleri sirozlu hastalarda, sirozlu olmayan hastalardan daha yüksek idi ve aralarındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.001$). PIIINP düzeyi için eşik değer 6.4 µg/l alındığında siroz ve ileri fibrozisi göstermede anlamlı olmadığı saptandı. Bu eşik değer alındığında sirozu göstermede doğruluk derecesi %60.5 saptandı, Oberti ve ark.larınm (6) çalışmasında ise viral etiyojili hasta grubu

için doğruluk derecesi %68 idi. PIIINP düzeylerinin siroz varlığını göstermedeki etkinliği ROC eğrileri ile değerlendirildiğinde eğri altında kalan alan 0.658 ± 0.048 olarak saptandı. PIIINP düzeyleri ile fibrozis dereceleri arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r=0.198$, $p<0.001$). Ayrıca PIIINP ile hyaluronat düzeyleri arasında da anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r=0.279$, $p<0.001$). Literatürde, PIIINP düzeylerinin fibrozisin değerlendirilmesinde alkolik hasta gruplarında daha iyi sonuçlar verdiği görülmektedir (16,22,23). Yine de PIIINP düzeylerinin sadece viral etiyojili karaciğer fibrozisinde tek başına tanısal bir parametre olarak kullanılması mümkün görülmemektedir. Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, serum hyaluronat düzeyinin viral etiyojili karaciğer hastalıklarında, eşik değer 60 ng/ml alındığında ileri fibrozis göstermede doğruluk derecesi %76, eşik değer 100 ng/ml alındığında sirozu göstermede ise doğruluk derecesi %75.2 bulunmuştur. Bu değerler, serum hyaluronat düzeylerinin karaciğer sirozu veya ileri fibrozisünün göstergesi olarak kullanılabilmesini düşündür-

mektedir. Ancak, sonuçlarımız viral etiyo-
jili karaciğer hastalarında, mevcut noninva-
ziv tanı yöntemlerinin tek başına karaciğer
ponksiyon biyopsisinin yerini alabileceğini
düşündürmemektedir. Bu konuda tanı değeri
yüksek, daha detaylı ve geniş kapsamlı ça-
lışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Perrillo RP: The role of liver biopsy in hepatitis C. *Hepatology*; 1997; 26:57.
2. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C: Paris, February 26-27, 1999. Consensus statement. *J Hepatol*; 1999; 31: 3.
3. Cadranet 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 (AFLF). *Hepatology*; 2000; 32: 477.
4. Froehlich F, Lamy O, Fried M, Gonvers JJ: Practice and complications of liver biopsy. Results of a nationwide survey in Switzerland. *Dig Dis Sci*; 1993; 38: 1480.
5. McGill DB, Rakela J, Zinsmeister AR, Ott BJ: A 21-year experience with major hemorrhage after percutaneous liver biopsy. *Gastroenterology*; 1990; 99: 1396.
6. Oberti F, Valsesia E, Pilelto C et al: Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology*; 1997; 113: 1609.
7. Tran A, Hastier P, Barjoan EM et al: Non invasive prediction of severe fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol*; 2000; 24: 626.
8. Leroy V, Traversay C, Barnoud R et al: Changes in histological lesions and serum fibrogenesis markers in chronic hepatitis C patients non-responders to interferon-?. *J Hepatol*; 2001; 35:120.
9. Ishibashi K, Kashiwagi T, Ito A et al: Changes in serum fibrogenesis markers during interferon therapy for chronic hepatitis type C. *Hepatology*; 1996; 1: 27.
10. Murawaki Y, Ikula Y, Okamoto K et al: Diagnostic value of serum markers of connective tissue turnover for predicting histological staging and grading in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*; 2001; 6: 399.
11. Myers RP, Ratziu V, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Poynard T: Biochemical markers of liver fibrosis: A comparison with historical features in patients with chronic hepatitis C. The MULTIVIRC group. *Am J Gastroenterol*; 2002; 97: 2419.
12. Myers RP, De Torres M, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Charlotte F, Poynard T: Biochemical markers of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. The MULTIVIRC group. *Dig Dis Sci*; 2003; 8: 146.
13. Lu LG, Zeng MD, Wan MB, Li CZ, Mao YM, Li JQ, Qiu DK, Cao AP, Ye J, Cai X, Chen CW, Wang JY, Wu SM, Zhu JS, Zhou XQ: Grading and staging of hepatic fibrosis, and its relationship with noninvasive diagnostic parameters. *World J Gastroenterol*; 2003; 9: 2574.
14. Ramadori G, Zoehrens G, Manns MP, Rider H, Dienes HP, Hess G, Meyer-z. Bueschenfelde KH: Serum hyaluronate and type III procollagen aminoterminal propeptide concentration in chronic liver disease. Relationship to cirrhosis and disease activity. *Eur J Clin Invest* 1991; 21:323.
15. Sotaniemi EA, Mungan Z, Ristelli J et al: Serum type III procollagen and basement membrane antigens in hepatitis B virus liver disease. *Euro J Internal Med*; 1992; 3:131.
16. Teare JP, Sherman D, Greenfield SM et al: Comparison of serum procollagen III peptide concentrations and PGA index for assessment of hepatic fibrosis. *Lancet*; 1993; 342: 895.
17. Jérôme G, Renée EP, Philippe G et al: Relationship between procollagen III aminoterminal propeptide and hyaluronan serum levels and histological fibrosis in primary biliary cirrhosis and chronic viral hepatitis C. *J Hepatol*; 1994; 20: 388.
18. Takato U, Sadatoka I, Michio S et al: Serum hyaluronate predicts response to interferon-? therapy in patients with chronic hepatitis C. *Hepato-Gastroenterology*; 1995; 42:522.
19. Jeffers JL, Coelho-Little EM, Cheinquer H et al: Procollagen-III peptide and chronic viral C hepatitis. *Am J Gastroenterol*; 1995; 9: 1437.
20. Guéhot J, Poupon RE, Ponpon R: Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis. *J Hepatol*; 1995; 22:103.
21. Jérôme G, Loria A, Serfaty L et al: Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C: effect of ?-interferon therapy. *J Hepatol*. 1995; 22: 22.
22. Slickel F, Urbaschek R, Schuppan D, Pöschl G, Oesterling C, Conrad C, McCuskey RS, Simanowski UA and Seitz HK: Serum collagen Type VI and XIV and hyaluronic acid as early indicators for altered connective tissue turnover in alcoholic liver disease. *Dig Dis Sci*; 2001; 46: 2025.
23. Nøjgaard C, Johansen JS, Christensen E, Skovgaard LT, Price PA, Becker U: Serum levels of YKL-40 and PII-INP as prognostic markers in patients with alcoholic liver disease. The EMALD group. *J Hepatol*; 2003; 39: 179.
24. Piletic C, Rousselet MC, Bedossa P et al: Histopathological evaluation of liver fibrosis: quantitative image analysis vs semi-quantitative scores. *J Hepatol*; 1998; 28: 439.
25. Thabut D, Simon M, Myers RP, Messous D, Thibault V, Imbert-Bismuth F, Poynard T: Noninvasive prediction of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*; 2003; 37: 1220.
26. Kömer T, Kropf J, Kosche B, Kristahl II, Jaspersen D, Gressner AM: Improvement of prognostic power of the Child-Pugh classification of liver cirrhosis by hyaluronan. *J Hepatol*; 2003; 39: 947.
27. Min Zheng, Wei-Min Cai, Hong-Lei Weng, Rong-Hua Liu: ROC curves in evaluation of serum fibrosis indices for hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol*; 2002; 8:1073.
28. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intra-observer and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1994; 20: 15.
29. Knodell RG, Ishak KG, Black WC et al: Formulation and application of numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981; 1: 431.
30. Nord HJ: Biopsy diagnosis of cirrhosis: blind percutaneous versus guided direct vision techniques - a review. *Gastrointest Endosc*; 1982; 28: 102.