

**Lek. Jacek Kowalski**

**PORÓWNANIE ZGODNOŚCI WYNIKÓW  
POMIARU WŁÓKNIENIA WĄTROBY  
OCENIANEGO PRZY POMOCY BIOPSI WĄTROBY ORAZ  
JEDNOWYMIAROWEJ ELASTOGRAFII IMPULSOWEJ  
U DOROSŁYCH PACJENTÓW PRZEWLEKLE ZAKAŻONYCH  
WIRUSEM ZAPALENIA WĄTROBY TYPU C**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych**

**Promotor:**

**Prof. dr hab. med. Andrzej Horban**

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Klinika Chorób Zakaźnych dla Dorosłych

Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie



Oddział III

Ordynator: dr n. med. Grażyna Cholewińska-Szymańska

**Warszawa 2017**

# Streszczenie

## Wstęp

Wśród dorosłych pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C, na każdym z etapów choroby, ocena włóknienia wątroby (ang. Staging, St) jest kluczowa do określenia dalszego rokowania, monitorowania choroby i podjęcia decyzji terapeutycznych. Złotym standardem diagnostyki zaawansowania włóknienia w obrębie wątroby jest biopsja wątroby. Pomimo tego, że jest to metoda inwazyjna, obarczona trudnym do uniknięcia ryzykiem powikłań oraz błędami w ocenie obrazu histopatologicznego, takimi jak możliwość istnienia tzw. błędu próbki, jak i różnic śród- i międzyobserwacyjnych, przy zachowaniu odpowiedniej jakości i długości materiału biopsyjnego oraz oceny przez doświadczonego histopatologa, pozostaje badaniem niezastąpionym. Dodatkowo, jedynie dzięki biopsji wątroby istnieje unikatowa możliwość równoczesnej oceny aktywności histologicznej procesu zapalnego (ang. Grading, Gr), poziomu stłuszczenia wątroby oraz architektury zrazików wątrobowych. Biopsję wątroby, o ile nie ma co do tego przeciwwskazań, należy również bezdyskusyjnie wykonać w przypadku podejrzenia współistnienia innych chorób wątroby, niezgodności wyników badań nieinwazyjnych ze stanem klinicznym pacjenta oraz w przypadku rozbieżności wyników różnych badań nieinwazyjnych. Współcześnie, nieinwazyjne metody oceny włóknienia wątroby, w tym metoda wiodąca, którą jest jednowymiarowa elastografia impulsowa (ang. Transient Elastography, TE), oferują coraz doskonalszą alternatywę dla diagnostyki inwazyjnej. TE wykonywana między innymi przy pomocy urządzenia FibroScan® jest dobrze zwalidowana wśród pacjentów zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu C (ang. Hepatitis C Virus, HCV) i jest metodą zalecaną w krajowych oraz międzynarodowych rekomendacjach w nieinwazyjnej ocenie włóknienia wątroby, a jej podstawową zaletą jest bezpieczeństwo i powtarzalność. Niestety, nadal nie istnieją krajowe wytyczne i procedury ściśle określające użyteczność metody, w tym definiujące wartości punktów odcięcia dla poszczególnych poziomów włóknienia wątroby zgodnie ze skalą METAVIR, ustalone na podstawie odpowiednich grup pacjentów, w bezpośrednim porównaniu do wyników biopsji wątroby. Dodatkowo, w codziennej praktyce klinicznej, zauważalny jest fakt istnienia niezgodności pomiędzy wynikami biopsji wątroby i badania FibroScan®, co może świadczyć o niedoskonałości jednej bądź obu metod i może być równocześnie przyczyną podjęcia nieodpowiednich decyzji klinicznych.

## **Założenia i cel pracy**

Celem nadrzędnym niniejszej pracy była ocena wartości diagnostycznej zarówno biopsji wątroby jak i TE w ocenie poziomu włóknienia wątroby wśród pacjentów zakażonych HCV oraz próba ustalenia czynników wpływających na występowanie niezgodności wyników obu metod ze stanem klinicznym pacjenta i wynikami innych badań określających zaawansowanie choroby wątroby. Celem dodatkowym pracy była próba określenia zakresu punktów odcięcia (ang. cut-offs) uzyskiwanych wyników w badaniu FibroScan®, odpowiadających odpowiednim poziomom włóknienia wątroby zgodnie ze skalą METAVIR, w bezpośrednim porównaniu z wynikami wykonanej jednocześnie biopsji wątroby w populacji polskich dorosłych pacjentów z przewlekłą monoinfekcją HCV do tej pory nieleczonych przeciwwirusowo, z wykluczeniem pacjentów z klinicznie jawną marskością wątroby.

## **Pacjenci i metody**

Retrospektywnej analizie poddano kohortę 238 dorosłych pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C, zgłaszających się kolejno do Oddziału I, III lub IV Wojewódzkiego Szpitala Zakaźnego w Warszawie celem poszerzenia diagnostyki zakażenia HCV przed włączeniem leczenia przeciwwirusowego w okresie od lutego 2013 roku do lipca 2015 roku. Wszyscy pacjenci z grupy badanej mieli wyjściowo potwierdzoną aktywną replikację HCV w surowicy metodą PCR (ang. Polymerase Chain Reaction) z odwrotną transkryptazą w czasie rzeczywistym (ang. Real Time PCR, RT PCR) oraz stabilne wartości aktywności transaminaz (aminotransferazy alaninowej (ang. ALanine Transaminase, ALT) i asparaginianowej (ang. ASpartate Transaminase, AST)), fosfatazy zasadowej (ang. AlkaLine Phosphatase, ALP) i gamma-glutamylotranspeptydazy (ang. Gamma-Glutamyl TransPeptidase, GGTP). Wszystkim pacjentom wykonano pełny profil badań morfologicznych, biochemicznych, immunochemicznych, koagulologicznych, serologicznych i molekularnych, a także badanie ultrasonograficzne (USG) jamy brzusznej, badanie FibroScan® oraz przezskórną, gruboigłową biopsję wątroby igłą aspiracyjną.

W ramach analizy statystycznej wyznaczono czułość (ang. Sensitivity, Se), swoistość (ang. Specificity, Sp), wartość predykcyjną dodatnią (ang. Positive Predictive Value, PPV) i ujemną (ang. negative predictive value, NPV), iloraz wiarygodności wyniku dodatniego (ang. positive Likelihood Ratio, LR+) i ujemnego (ang. negative Likelihood Ratio, LR-) oraz

dokładność (ang. Accuracy, Acc) wartości sztywności wątroby (E) wyrażonych w kilopaskalach (kPa) uzyskanych przy pomocy badania FibroScan® odpowiadających odpowiednim poziomom włóknienia wątroby zgodnie z skalą METAVIR, wyznaczonych przy użyciu modelowych punktów odcięcia zaproponowanych przez Castera i wsp. w 2005 roku w odniesieniu do wyniku referencyjnego, jakim był poziom włóknienia wątroby (St) określony przy pomocy biopsji wątroby w oparciu o skalę Scheuera. Następnie wyznaczono współczynniki korelacji rang Spearmana, krzywą charakterystyki operatora odbiornika (ang. Receiver Operating characteristic Curve, ROC) i obliczono pole pod tą krzywą (ang. Area Under ROC, AUROC) dla zdiagnozowania każdego z poziomów włóknienia wątroby zgodnie ze skalą METAVIR ( $F \geq 1$  (F0 kontra F1,2,3,4),  $F \geq 2$  (F0,1 kontra F2,3,4),  $F \geq 3$  (F0,1,2 kontra F3,4) oraz  $F=4$  (F0,1,2,3 kontra F4)). Po przeprowadzeniu analizy jednoczynnikowej, gdzie oceniono niezależnie wpływ poszczególnych zmiennych na zgodność, ograniczając się jedynie to atrybutów mających istotny statystycznie wpływ na występowanie niezgodności poziomu włóknienia wątroby oszacowanego na podstawie biopsji wątroby z wartością sztywności wątroby uzyskaną w badaniu FibroScan®, przeprowadzono analizę wieloczynnikową. Nowe, optymalne punkty odcięcia w grupie badanej wybrano maksymalizując informacje wzajemne (ang. Mutual Information, MI) przy ograniczeniu czułości >60%.

## Wyniki

W populacji badanej, na podstawie wyniku histopatologicznego bioptatu wątroby, stwierdzono włóknienie wątroby zgodnie ze skalą METAVIR na poziomie: F0 u 16.8% pacjentów (n=40/238), F1 u 55.9% pacjentów (n=133/238), F2 u 17.2% pacjentów (n=41/238), F3 u 4.6% pacjentów (n=11/238), zaś F4 u 5.5% pacjentów (n=13/238). Porównując bezpośrednio poziom włóknienia wątroby zgodnie ze skalą METAVIR, określony przy pomocy biopsji wątroby i badania FibroScan®, używając modelowych punktów odcięcia zaproponowanych przez Castera i wsp. w 2005 roku, uzyskano wyniki biopsji wątroby zgodne z wynikami sztywności wątroby w 69.3% przypadków (n=165/238), zaś niezgodne w 30.7% przypadków (n=73/238). Wśród przypadków niezgodnych w 8.0% (n=19/238) różnice dotyczyły  $\geq 2$  stopni włóknienia wątroby. W populacji badanej uzyskano wartości AUROC dla zdiagnozowania  $F \geq 1$ ,  $F \geq 2$ ,  $F \geq 3$  i  $F=4$  równe odpowiednio: 0.691 ( $p < 0.00001$ ), 0.898 ( $p < 0.00001$ ), 0.937 ( $p < 0.00001$ ) i 0.954 ( $p < 0.00001$ ). Wybrano następujące nowe, optymalne punkty odcięcia sztywności wątroby w populacji badanej odpowiadające poszczególnym poziomom włóknienia wątroby zgodnie ze skalą METAVIR:

<5.5 kPa = F0, 5.5-8.6 kPa = F1, 8.7-11.4 kPa = F2, 11.5-13.4 kPa = F3,  $\geq$ 13.5 kPa = F4. Porównując bezpośrednio poziom włóknienia wątroby zgodnie ze skalą METAVIR określony przy pomocy biopsji wątroby i badania FibroScan®, używając nowych punktów odcięcia, uzyskano wyniki biopsji wątroby zgodne z wynikami sztywności wątroby w 76.9% przypadków (n=183/238), zaś niezgodne w 23.1% przypadków (n=55/238), co dało wzrost prawidłowego przyporządkowania wyników dla wszystkich poziomów włóknienia łącznie o 7.6% (69.3 kontra 76.9%). Wśród przypadków niezgodnych w 6.7% (n=16/238) różnice dotyczyły  $\geq$ 2 stopni włóknienia wątroby, co dało spadek częstości ich występowania o 1.6% (8 kontra 6.7%). W analizie jednoczynnikowej, wartości sztywności wątroby uzyskane w badaniu FibroScan® istotnie statystycznie korelowały ze wszystkimi parametrami histopatologicznymi ocenionymi w biopsji wątroby, tj. z oceną aktywności zapalnej (p<0.00001), poziomem włóknienia wątroby (p<0.00001) oraz w mniejszym stopniu z poziomem stłuszczenia wątroby (p=0.005). W grupie braku zgodności włóknienia wątroby, ocenionego w badaniu histopatologicznym bioptatu wątroby z wartością sztywności wątroby uzyskaną przy pomocy badania FibroScan®, między innymi: wiek pacjentów (p=0.0015) i wartości wskaźnika masy ciała (ang. Body Mass Index, BMI) (p=0.0050) były wyższe, częściej występowały zmiany ogniskowe w badaniu USG (p=0.0503), aktywność ALT (p=0.0005), AST (p<0.00001) i GGTP (p=0.0298) była wyższa, poziom  $\alpha$ -fetoproteiny (ang. Alpha-fetoprotein, AFP) był wyższy (p=0.0267), częściej występowało nadciśnienie tętnicze (p=0.0177), wartości sztywności wątroby wyrażone w kPa (p<0.00001) były wyższe, a odpowiadające im poziomy włóknienia wątroby zgodnie ze skalą METAVIR wynoszące F2-4 (p<0.00001) występowały częściej, wartości E- odstęp międzykwartyłowy (ang. InterQuartile Range, IQR) / medianę (ang. Median, M) wyrażone w procentach były wyższe (p=0.0092). Poza tym w badaniu histopatologicznym bioptatów wątroby w ocenie aktywności zapalnej wynik Gr 2 występował częściej (p<0.00001), w ocenie włóknienia wątroby poziom włóknienia (St) był wyższy (p <0.00001), a poziom St 2 i 3 występował częściej (p <0.00001), w ocenie stłuszczenia wątroby jego obecność była częstsza (p=0.0052), a niezgodność występowała częściej przy poziomie stłuszczenia  $\geq$ 1 stopień zarówno przy pierwszym (p=0.0151) jak i drugim (p=0.0121) podziale stłuszczenia. W analizie wieloczynnikowej potwierdzono jedynie, że wyższe wartości sztywności wątroby (E) mogą sprzyjać występowaniu niezgodności wyników.

## Wnioski

Jednowymiarowa elastografia impulsowa (TE) jest w stanie znacząco zredukować ilość wykonywanych biopsji wątroby, ale nie całkowicie ją zastąpić. Wartość badania FibroScan® może być wyraźnie ograniczona u starszych pacjentów, nadużywających alkoholu, z koinfekcjami oraz z niekorzystnymi warunkami anatomicznymi takimi jak: otyłość, wąskie przestrzenie międzyżebrowe, wodobrzusze z płynem otaczającym wątrobę oraz zmiany ogniskowe i malformacje naczyniowe w miejscu wykonywania badania. Optymalnie, przed wykonaniem badania FibroScan®, doświadczony radiolog powinien wykonać badanie USG jamy brzusznej celem: oceny stanu wątroby (wykluczenie cholestazy pozawątrobowej, przekrwienia wtórnego wątroby i zmian ogniskowych wątroby), ewentualnego występowania cech nadciśnienia wrotnego (splenomegalia czy wodobrzusze) oraz wyznaczenia optymalnego miejsca do wykonania badania FibroScan®. Optymalnie przed wykonaniem badania FibroScan® należy również orientacyjnie ocenić poziom aktywności zapalnej w wątrobie poprzez wykonanie podstawowych badań laboratoryjnych, w tym oznaczenia aktywności transaminaz, która nie powinna przekraczać 2x górnej granicy normy. Badanie FibroScan® powinno być każdorazowo wykonywane przez doświadczonego operatora, u pacjenta będącego na czczo lub po upływie 6 godzin od ostatniego posiłku, w pozycji na wznak z prawym ramieniem w maksymalnym odwiedzeniu, umieszczając głowicę urządzenia prostopadle, w zakresie między 9. a 11. przestrzenią międzyżebrową w linii pachowej przedniej. Aby uznać wynik badania FibroScan® za wiarygodny liczba uzyskanych trafnych pomiarów (ang. number of valid measurements) powinna wynosić  $\geq 10$ , a IQR/M  $\leq 30\%$  (optymalnie  $< 21\%$ ). Uzyskana wartość wskaźnika sukcesu (ang. Success Rate, SR), która powinna wynosić  $\geq 60\%$  ma mniejsze znaczenie, a jej uwzględnianie nie jest konieczne. Dalsze decyzje kliniczne względem pacjenta nigdy nie mogą opierać się na pojedynczym, nawet posiadającym cechy wiarygodności, wyniku badania FibroScan®. Wynik badania FibroScan® musi zawsze być interpretowany przez doświadczonego klinicystę specjalizującego się w chorobach wątroby w odniesieniu do konkretnego przypadku klinicznego uwzględniając wyniki innych badań (laboratoryjnych, molekularnych, obrazowych i ewentualnie endoskopowych) oraz biorąc pod uwagę kryteria wiarygodności uzyskanego wyniku i możliwość występowania ewentualnych niezgodności. Badanie FibroScan®, biorąc pod uwagę czynniki mogące fałszować jego wynik, jest w stanie dość precyzyjnie rozróżnić pacjentów z brakiem bądź minimalnym włóknieniem wątroby (METAVIR F0/1) od pacjentów z zaawansowanym włóknieniem wątroby (METAVIR F $\geq 2$ ).

Badanie FibroScan® może również trafnie i wcześniej identyfikować pacjentów z marskością wątroby (METAVIR F=4), włączając marskość skompensowaną, ale wykluczając marskość wielkoguzkową i jest zdecydowanie lepsze w wykluczeniu marskości wątroby niż jej potwierdzeniu. Kwalifikując konkretną wartość sztywności wątroby uzyskaną w badaniu FibroScan® do odpowiadającego jej poziomu włóknienia wątroby zgodnie ze skalą METAVIR, powinno się stosować raczej zakresy wartości niż konkretne pojedyncze punkty odcięcia. Przykładowo, jeśli wartość sztywności wątroby mieści się w zakresie między 2.5 a 5.4 kPa prawdopodobnie nie ma włóknienia wątroby (METAVIR F0; PPV 90.9%-wykluczenie włóknienia wątroby), zaś jeśli wynosi  $\geq 13.5$  kPa prawdopodobnie mamy do czynienia z marskością wątroby (METAVIR F4; NPV 99.5%- potwierdzenie marskości wątroby). Jeśli wartość sztywności wątroby wynosi między 5.5 a 13.4 kPa prawdopodobnie włóknienie wątroby mieści się w zakresie między F1 a F3 zgodnie ze skalą METAVIR, będącym tak zwaną szarą strefą badania FibroScan®. Należy wówczas mieć na uwadze możliwość nakładania się na siebie poszczególnych poziomów włóknienia wątroby. W przypadku niezgodności kontekstu klinicznego danego pacjenta i wyniku jego badania FibroScan®, badanie to powinno być powtórzone, a w przypadku ponownego braku możliwości wyjaśnienia tych niezgodności, należy wykonać, o ile nie ma co do tego przeciwwskazań, biopsję wątroby.

**Słowa kluczowe:** biopsja wątroby, FibroScan®, jednowymiarowa elastografia impulsowa, przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C, sztywność wątroby, wirus zapalenia wątroby typu C, włóknienie wątroby.

## **Abstract**

### **Title**

**Comparison of accuracy of the liver biopsy and transient elastography  
in staging of liver fibrosis among adult chronic hepatitis C virus infected patients**

### **Introduction**

Among adult chronic hepatitis C patients at every stage of the disease, assessing the stage of liver fibrosis is crucial to the estimation of prognosis as well as to monitoring the disease and indicating an antiviral treatment. It is liver biopsy (LB) that remains a gold standard in the assessment of severity of liver disease. However, it is an invasive diagnostic procedure associated with the risk of complications and subject to errors in the assessment of the histopathological image, such as sampling errors and intra- and inter-observer variability. If accompanied with appropriate biopsy material, in terms of its quality and length, and evaluated by an experienced histopathologist LB remains an irreplaceable tool. Moreover, it is solely by means of LB that it is possible to assess simultaneously the grading (Gr) of liver inflammation, the hepatic steatosis level and the structure of liver lobules. Unless there are contraindications, LB is to be carried out if other liver-related diseases seem to occur, if the results of two non-invasive methods are not in conformity with the clinical state of a patient and if various non-invasive methods bring about discordant results. Nowadays, non-invasive methods of assessing liver fibrosis - including the leading one, namely unidimensional transient elastography (TE) - offer a more perfect alternative for invasive diagnosing. The TE, which is performed using a FibroScan® device by measuring liver stiffness (LS), is well validated among the hepatitis C virus (HCV)-infected patients and is recommended in both international and national guidelines concerning non-invasive assessment of liver fibrosis. A fundamental advantage of this method is its safety and reproducibility. Sadly, there are not national procedures and recommendations that would specify the utility of the method and define the proper cut-offs values for each liver fibrosis stage, according to the METAVIR scoring system and established by appropriate groups of patients in comparison to the results of LB. Furthermore, in everyday clinical practice, it is noticeable that the results of LB and the ones of FibroScan® differ significantly, which may suggest that either method is imperfect and may also be at the source of making wrong clinical decisions.

## **Objectives**

Firstly, the main aim of this work was to assess the diagnostic value of both LB and the TE in the assessment of staging (St) of liver fibrosis among the HCV-infected patients. Secondly, we also aimed at attempting to determine the factors that may cause the discrepancy between the results of either method and the clinical state of a patient as well as the results of other methods diagnosing the stage of the disease. Thirdly, we endeavoured to establish the range of the LS cut-offs values received by FibroScan® for each fibrosis stage according to METAVIR scoring system in comparison to the results of LB carried out once



among adult Polish CHC mono-infected and never antivirally treated patients, excluding the patients suffering from clinically significant liver cirrhosis.

## **Patients and methods**

A retrospective analysis included a cohort of 238 consecutive chronic HCV-infected patients admitted to Departments I, III or IV at the Hospital for Infectious Diseases in Warsaw between February 2013 and July 2015 in order to expand diagnosing of the HCV infection, prior to implementing the antiviral treatment. In the beginning, all the patients had positive serum HCV-RNA by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) as well as steady values of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and gamma-glutamyl transpeptidase (GGTP). All of the patients had undergone a full range of morphological, biochemical, immunochemical, coagulological, serological and molecular tests as well as abdominal ultrasonography (USG), FibroScan® examination and percutaneous, coarse-needle aspiration biopsy. Within the statistical analysis, the diagnostic performance of LS for fibrosis prediction was assessed, using sensitivity (Se), specificity (Sp), positive and negative predictive value (PPV/NPV), positive and negative likelihood ratios (LR+/LR-) and accuracy (Acc). The values of LS given in kPa, having an appropriate liver fibrosis stage according to the METAVIR scoring system using Castera et al., 2005 cut-offs values in relation to the referential result, that is the liver fibrosis stage identified through the LB assessed according to Scheuer scale. Subsequently, the relationships between LS and histological parameters were characterized using the Spearman's rank correlation coefficients, receiver operating characteristic curves (ROC) with the calculation of the area under the curve (AUROC) so as to diagnose each of the liver fibrosis stages according to METAVIR scoring system ( $F \geq 1$  (F0 vs F1,2,3,4),  $F \geq 2$  (F0,1 vs F2,3,4),  $F \geq 3$  (F0,1,2 vs F3,4) and  $F=4$  (F0,1,2,3 vs F4)). First, we conducted a univariate analysis in which we assessed independently the impact of each variable on the conformity between every stage of liver fibrosis estimated at the LB and by FibroScan®. Second, focusing only upon the factors that may have a statistical significance influence on the discrepancy, a multivariate analysis was carried out. New, optimal LS cut-offs values were chosen in order to maximize mutual information, while limiting Se to >60%.

## **Results**

The fibrosis stage distribution in our patients in biopsy specimens according to METAVIR scoring system was as follows: F0 in 16.8% patients (n=40/238), F1 in 55.9%

patients (n=133/238), F2 in 17.2% patients (n=41/238), F3 in 4.6% patients (n=11/238), whereas F4 in 5.5% patients (n=13/238). Comparing directly the stage of liver fibrosis determined by means of LB and FibroScan® using Castera et al., 2005 cut-offs values, we achieved the results of LB in conformity with the results of LS in 69.3% of the cases (n=165/238), while in 30.7% of the cases (n=73/238) such conformity has not been stated. Among the cases which have not been in conformity in 8.0% (n=19/238), the differences concerned  $\geq 2$  degrees of liver fibrosis. AUROCs for diagnosis of fibrosis  $F \geq 1$ ,  $F \geq 2$ ,  $F \geq 3$  and  $F = 4$  were: 0.691 ( $p < 0.00001$ ), 0.898 ( $p < 0.00001$ ), 0.937 ( $p < 0.00001$ ) and 0.954 ( $p < 0.00001$ ) respectively. The following new optimal cut-offs values of LS, which corresponded to the respective stages of liver fibrosis have been selected:  $< 5.5$  kPa = F0, 5.5-8.6 kPa = F1, 8.7-11.4 kPa = F2, 11.5-13.4 kPa = F3,  $\geq 13.5$  kPa = F4. Comparing directly the stage of liver fibrosis determined by means of LB and FibroScan® while using new cut-offs values, the results of LB conforming to the results of LS in 76.9% cases (n=183/238), and non-conforming in 23.1% of the cases (n=55/238) have been obtained. This resulted in an increase in the correct correspondence of the results for all the stages of fibrosis by 7.6% (69.3 vs 76.9%). Among the non-conforming cases, the differences concerned the stages of liver fibrosis  $\geq 2$  in 6.7% (n=16/238), which resulted in a decrease in their occurrence by 1.6% (8 vs 6.7%).

In a univariate analysis, the values of LS obtained by FibroScan® were statistically significant with all the histopathological parameters assessed in LB, that is with an assessment of the grade of inflammation ( $p < 0.00001$ ), with the stage of liver fibrosis ( $p < 0.00001$ ) and, to a smaller extent, with the degree of hepatic steatosis ( $p = 0.005$ ). In the group of non-conformity of the result of LB with the value of LS assessed by FibroScan®, the age of the patients ( $p = 0.0015$ ) and the values of the Body Mass Index ( $p = 0.0050$ ) have been higher; focal liver lesions occurred more frequently in USG ( $p = 0.0503$ ), activity of ALT ( $p = 0.0005$ ), AST ( $p < 0.00001$ ) and GGTP ( $p = 0.0298$ ) were higher; the level of alpha-fetoprotein (AFP) was higher ( $p = 0.0267$ ); hypertension occurred more often ( $p = 0.0177$ ); the values of LS in kPa ( $p < 0.00001$ ) were higher, and stages F2-4 ( $p < 0.00001$ ) of liver fibrosis occurred more often; interquartile range of the median value (IQR/M) for LS expressed in % were higher ( $p = 0.0092$ ). Moreover, in the histopathological analysis of LB specimens in the assessment of the grading of necroinflammatory activity, the result of Gr 2 occurred more frequently ( $p < 0.00001$ ); in the assessment of liver fibrosis, the stage of fibrosis was higher ( $p < 0.00001$ ), and stage St 2 and 3 occurred more often ( $p < 0.00001$ ); in the assessment of hepatic steatosis,

its presence was more frequent ( $p=0.0052$ ), whilst the discrepancy occurred more often in the steatosis degree  $\geq 1$ , at both the first ( $p=0.0151$ ) and the second ( $p=0.0121$ ) level of steatosis. In the multivariate analysis, it has been stated that higher values of LS may contribute to the discrepancy of the results.

## Conclusions

TE is useful method of reducing significantly the number of LB, albeit it is impossible to replace it completely. The importance of FibroScan® may be substantially limited in older patients, abusing alcohol, with co-infections and unfavourable anatomical conditions such as: obesity, narrow intercostal spaces, ascites with fluid surrounding the liver as well as focal lesions and vascular malformations in the liver. Most preferably, before using FibroScan®, an experienced radiologist ought to carry out abdominal USG in order to: assess the liver state (excluding extra-hepatic cholestasis, liver congestion and focal liver lesions) and the occurrence of portal hypertension (splenomegaly and ascites) as well as determine the optimal place to perform FibroScan®. Furthermore, prior to using FibroScan®, one should also assess the grading of necroinflammatory activity in the liver through perform the main tests assessing grade for activity, including transaminases levels, which should not be elevated 2x upper limit of normal. FibroScan® should be used each time by an experienced operator in a patient after overnight fast or after 6 hours from the last meal, in the supine position, with the right arm in maximum abduction. The FibroScan® transducer should be placed perpendicularly between the 9th and 11th intercostal space in anterior axillary line. In order to consider reliable examination of FibroScan®, the number of valid measurements ought to be  $\geq 10$  and IQR/M ratio should be  $\leq 30\%$  (most preferably  $< 21\%$ ). An obtained success rate, which should amount to  $\geq 60\%$ , is of lesser importance and thus it is not necessary to take it into consideration. Further clinical decisions with regard to the individual patient cannot be based on a single FibroScan® examination even if its finding is reliable. The FibroScan® result must always be interpreted by an expert clinician who specialises in liver-related diseases, according to the specific clinical context, taking into account the results of other tests (laboratory, molecular, imagery and, if possible, endoscopy) and taking into account the recommended quality criteria and its possible pitfalls. FibroScan®, while considering the factors that may falsify the results, is capable of distinguishing quite accurately the patients with no or mild liver fibrosis (METAVIR F0/1) from the patients with significant liver fibrosis (METAVIR F $\geq 2$ ). FibroScan® may also early and effectively identify the patients with liver cirrhosis (METAVIR F=4), including compensated cirrhosis, but excluding

macronodular cirrhosis, and is better at excluding than at predicting cirrhosis. In evaluating a specific LS values receive by FibroScan® with a corresponding stage of liver fibrosis according to METAVIR scoring system, the use of ranges of values rather than a single cut-off value should be used. For instance, when LS values range between 2.5 and 5.4 kPa absent fibrosis is likely (METAVIR F0; PPV 90.9% – exclusion of liver fibrosis), while if it is equal to  $\geq 13.5$ , kPa cirrhosis is likely to occur (METAVIR F4; NPV 99.5% – prediction of liver cirrhosis). If a LS value oscillates between 5.5 and 13.4 kPa, liver fibrosis staging is likely to be between F1 and F3 according to METAVIR scoring system, being a so-called grey area of FibroScan®. Then, it is necessary to consider a possibility of substantial overlap of LS values which was observed between adjacent stages of hepatic fibrosis. TE should be repeated when results are discordant with the clinical context of a given patient and a LB - with no contraindications stated - should be performed when discordance is unexplained.

**Key words:** chronic hepatitis C, FibroScan®, hepatitis C virus, liver biopsy, liver fibrosis, liver stiffness, unidimensional transient elastography.