

肝纤维化无创诊断的相关研究进展

罗爽, 邢卉春(首都医科大学附属北京地坛医院 肝病中心, 北京 100015)

肝纤维化是指肝脏发生各种慢性疾病时所经历的共同的病理过程。目前研究已经表明, 肝纤维化并非不可逆转的疾病。经过适当的治疗后, 肝纤维化程度可得到减轻或是逆转。因此, 确定肝纤维化的程度, 对于了解疾病进展、拟定适当的治疗方案、判定疗效、了解疾病的自然史具有着重要的临床意义。

肝组织活检一直以来都被认为是肝纤维化的诊断的金标准^[1], 随着这项技术在临床的使用, 其弊端开始出现: 首先, 作为一项有创检查, 会出现疼痛、出血、感染甚至休克、死亡等并发症。有学者统计发现, 有10%~30%的患者会出现穿刺后疼痛, 0.3%的患者出现严重疼痛以及出血、胆汁外漏、刺伤其他脏器严重并发症, 0.01%的患者死亡^[2]。这些并发症可能带来的痛苦以及昂贵的检查费使得很大一部分患者对其产生排斥, 依从性不佳。其次, 肝组织活检标本的大小有限, 标本体积只能占到整个肝脏的1/50 000, 难以对肝脏整体的病变情况做出正确的评估, 这是造成肝组织活检结果假阳性和假阴性的独立危险因素之一^[3-4]。此外, 主观因素也会对诊断结果造成误差, 如针对肝组织活检采用的不同评分系统, 同时不同的观察这也会得出不同的观察结果, 这些都是不可预测的主观因素^[5]。

因此多年来, 人们一直在寻找低成本、低风险、高效率的无创方式来评估肝纤维化程度。近几年, 以综合多项临床、生物化学指标为基础的肝纤维化无创诊断模型及以肝脏弹性波的速度侧面反映肝脏组织硬度的肝脏弹性测定(Fibroscan)得到了大部分专家学者的关注和认可。同时, 也有一部分专家致力于寻找能敏感、准确地反应肝纤维化程度的单项血清学指标或者开发其他无创检查方式。

1 肝纤维化无创血清学的诊断方法

肝纤维化无创血清学诊断模型根据其构成参数一般分为两类: 一类是建立在临床常规检查指标基础上的简单模型, 如APRI、FIB-4、Forns指数、APAG、S指数等; 另一类是以血清肝纤维化模型为基础的, 如Fibrotest、FibroSpect II、Fibro Meter、Hepascore、SLFG模型、FibroIndex、FT-AT、及Fibro-pro等。模型的诊断价值一般用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, 简称ROC曲线)下面积来评价, 面积越大, 诊断价值就越高。观察后发现,

这些模型一般具备以下共同特点: 不同的模型应用于不同的患者人群时, 其ROC曲线下面积(area under the ROC curve, AUROC)基本大于0.8; 大部分检测指标易从临床获取; 在判断有($S_2 \sim S_4$)或无明显($S_0 \sim S_1$)纤维化的诊断上参考价值较高, 但对于判断具体肝纤维化分期时则效果有限; 各个模型均有较为理想的特异性、敏感性、阳性预测值、阴性预测值, 应用中可使39%~60%的患者避免肝组织活检, 并且可保证诊断准确性在80%以上。目前研究表明, 上述两类常用诊断模型在实际应用中, 第二类的准确性更高, 但与第一类模型在诊断准确性上的差别并不明显。而且, 由于第一类诊断模型因其自身有易获得、价格便宜等特点, 更易于推广使用。因此在研究中也更为受关注, 如Shaheen等^[6]利用3788例CHC患者的资料对APRI(为仅包含天冬氨酸转移酶与血小板的简单模型)做了Meta分析, 使我们有了更可靠的参考信息。

总体来说, 使用无创血清学诊断模型用于对不同原因造成的肝纤维化进行诊断必然有其无可取代的一些优势: 首先, 血清学检查为无创检查方式, 患者只需要定期抽取少量静脉血即可完成检查; 其次, 血清学各项指标更能全面的反应患者整体的情况及状态, 不受脂肪含量、体重、腹水等患者自身因素的干扰影响; 并且易于反复多次检测, 便于患者治疗过程中的复查及随访; 此检查方法与肝组织活检相比无论是风险性或者是费用, 都更易于被患者接受。

但随着国内外学者们对无创血清学模型的深入研究, 一些问题也逐渐出现。

(1)肝纤维化无创血清学诊断模型的应用缺乏统一的评价标准。由于建模时针对的患者人群不同, 有些基于HCV患者的模型在HBV患者中使用的诊断效果就会相对较低。在文献报道中, 大部分应用的无创模型AUROC > 0.8, 甚至有些模型的AUROC > 0.9, 但在国内一些实际应用的研究中AUROC却未达到期望的数值, 如Shin等^[7]在一则264例HBV患者的研究中, 计算APRI的AUROC为0.86(0.82~0.91), 但Shaheen等^[44]对3778例HCV患者做Meta分析中, AUROC仅为0.76(0.74~0.79)。Adams等^[8]通过Hepascore模型对117例HCV患者进行分析, 计算出AUROC为0.85(0.78~0.93), 而Cacoubi等^[47]的研究结果却仅为0.69

(0.63~0.74)。对于FibroMeter模型的分析, Boursier等^[10]和Cacoubi等^[9]的分析结果亦相差约2%, 其差异是难以忽视的。造成以上问题的原因可能是由于建模组的病因与验证组的病因不同, 模型本身受疾病种类的限制, 也可能是由于病例选取过程中的选择偏倚所造成, 具体原因还需要进一步研究。

(2)肝纤维化无创血清学诊断模型的应用缺乏统一的选择标准。短短几年中, 大约有十几种模型出现, 不同的模型建模时分别依据不同的疾病类型, 有的甚至是综合多种疾病共同建模。在应用中并无统一的选择标准, 因此, 临床应用时对于如何选取合适的诊断模型就成为了一一个问题。

(3)肝纤维化无创血清学诊断模型的诊断可靠性尚不明确。由于各个无创诊断模型诊断的确立均是以肝组织活检结果作为验证标准, 其准确性也会受到肝组织活检误差因素的影响, 例如各纤维化分期的比例、肝组织活检标本长度和碎片数目等。

(4)肝纤维化无创血清学诊断模型的计算繁琐。目前较为常见的这些无创诊断模型分别包含2~7个参数不等, 模型的烦琐程度也各不相同, 但基本都需要多步计算, 过程复杂, 容易出现失误, 不利于在临床工作中的应用。

综合以上原因, 目前无创诊断模型在临床的应用十分有限, 还处在研究开发阶段, 迫切的需要进一步将各个模型进一步规范整合, 并制定出一套统一、便捷、高效的诊断评价标准。

2 影像或物理学方法诊断肝纤维化

影像学检查由于其无创/微创、高效等特点, 一直是临床诊断的重要方法和手段之一。但常见的超声、计算机断层扫描(computed tomography, CT)对于轻度或中度的肝纤维化却不敏感, 只对有门脉高压征的晚期肝纤维化具有较高的敏感性和特异性, 并且CT射线对人体也有一定的损伤, 不利于短期内重复检查, CT的检查费用较为昂贵, 不便作为临床常规检查。磁共振在评估肝纤维化方面又分为核磁共振弥散加权成像(magnetic resonance imaging diffusion weighted imaging, MRI-DWI)、核磁共振灌注成像(perfusion weighted imaging, PWI)和磁共振弹性成像(magnetic resonance elastosonography, MRE)。MRI弥散加权成像是通过水分子的表现弥散系数值(apparent diffusion coefficient, ADC)来判断肝纤维化程度, 研究认为肝脏发生纤维化后会影晌水分子的热运动, 使ADC显著下降。MRI灌注成像是通过评价组织为循环血流动力学的情况来评估组织的功能状态。MRE利用特制的刺激器发射低频信号作用于人体组织, 利用MRI来探测组织或病变受到刺激后的弹性变化。研究认为^[31-33]这3种检查方式均有良好的肝纤维化诊断能力, 尤其是对于判断S₂和S₃、S₃和S₄, 在适用人群中诊断准确性明显优于肝纤维化血清学模型(AUROC > 0.85)。虽然其无创、高诊断准确性、不受转氨酶影响等的优势已受到很多学者的关注, 但由于目前技术不成熟、费用昂贵等因素, 目前主要以动物实验研究为主, 其在临床上的应用价值尚需进一步研究。

超声探测肝脏弹性(硬度)即“FibroScan”是近年来备受关注的—种新的检测手段, 目前已在国内开始使用, 主要用于评估肝纤维化程度。与肝组织活检所取得的肝脏标本大小相比较, FibroScan所能测量到的肝脏体积大小是活检体积的100倍, 并且无创、快捷、价廉、可重复性强等特点是此项技术的有力优势^[11,12]。近几年来, 很多专家也就其临床诊断价值做了一系列的临床研究, 进一步肯定其实际应用价值, 尤其是对于各类慢性病毒性肝炎患者肝纤维化的应用。具体方法为以病理诊断作为分级标准, 将FibroScan检测值做相关统计分析, 计算出相应的cutoff值、阳性预测值、阴性预测值和AUROC。

Sandrin等^[13]通过对106例CHC患者进行随访发现, 肝脏弹性的检测值与肝纤维化分期具有良好的相关性(相关系数为0.71)及诊断准确性(S₂及S₄的AUC分别为0.88和0.99), 并且可以在短期内反复检测, 可重复性佳。另有两项研究得到与之类似的结果, Fraquelli等^[14]对200例(不同病因的)慢性肝病者共进行了800次有效的肝脏硬度测定, 结果显示, 无论是组间还是组内进行比较, 肝脏弹性测定的可重复性都较高(同类相关系数为0.98); Konate等^[15]也得到了相似的结果, 表明FibroScan在肝纤维化患者中具有很好的可重复性。

部分专家学者根据不同的患者人群分别进行了相应的观察和研究, 认为FibroScan在诊断不同病因造成的肝纤维化中, 其诊断价值都是很可靠的。

Fibroscan在HCV患者中的诊断价值: Ziol等^[16]对327例丙型肝炎患者的进行的前瞻性多中心研究发现, 对于HCV患者来说, FibroScan诊断明显纤维化(F = 2)和肝硬化(F = 4)准确性较高, 同时确定了诊断F = 2、3、4的硬度界值分别为8.8、9.6、14.6 kPa, ROC曲线下面积分别为0.79、0.91、0.97, 对于肝硬化的阳性和阴性预测值分别为78%、97%。Takeda等^[17]通过对237例患者的研究中, 也得到了类似的结果。可见FibroScan对于诊断CHC造成的显著性肝纤维化(F ≥ 2)具有很好的一致性^[18]。

FibroScan在HBV患者中的诊断价值: Chan等^[19]通过213例CHB患者的FibroScan测量结果研究了该方法对CHB造成肝纤维化的诊断价值, 并将血清ALT与不同纤维化分期FibroScan诊断结果进行比较, 结果发现弹性测定诊断无肝纤维化(F0)(AUC = 0.8)、轻度肝纤维化(F1~F2)(AUC = 0.87)和肝硬化(F4)(AUC = 0.93)的准确性较高, 并且可得出用于诊断的截断值(cut off), 而ALT不具备这些诊断特异性, 表明FibroScan对HBV造成的显著肝纤维化的诊断价值优于对无纤维化的诊断, 对肝硬化的诊断性能最好。Marcellin等^[20]对170例CHB患者的研究也得出了类似的结果。该研究分析结果为诊断F = 2(截断值7.0 kPa)AUC = 0.81, F = 4(截断值10.3 kPa)AUC = 0.92, 具有较高的准确性; 尤其是诊断F = 4时, 具有较高的阳性预测率(48%)和阴性预测率(97%), 其对于F = 4时诊断价值明显优于F = 2的结果。

FibroScan在重叠感染患者中的诊断价值: De等^[21]通

过对72例HCV与HIV重叠感染患者的研究,发现诊断 $F = 2$ (截断值5.9kPa) $AUC = 0.72$ 、 $F = 4$ (截断值26kPa) $AUC = 0.97$, 肝脏弹性的测定值与肝纤维化程度明显相关。当诊断肝硬化的弹性测定值设为14.5kPa时,其诊断效果(特异性95%)明显优于血清学模型。Coco等^[60]对228例HCV与HBV重叠感染的患者进行的研究结果为 $F = 2$ 、4的AUROC值分别为0.93、0.96,其cut off值分别为8.3、14 kPa, $F = 4$ 的阳性与阴性预测率分别为98%和82%。该结果显示,对于HCV合并HBV感染造成的肝纤维化, FibroScan对于轻度肝纤维化(F2)和肝硬化(F4)均有较高的诊断价值。

Fibroscan方法也有其诊断上局限性。仪器探头仅能检测到皮下25~65 mm的区域,范围有限(但已明显优于肝组织活检),对于身体质量指数(body mass index, BMI)健康人群检测结果准确性较高,然而对于肥胖、脂肪肝、腹水及肋间隙狭窄的人群来说, FibroScan的检测结果和真实结果会有较大出入,其检测失败率为2.4%~9.4%^[23],经多元分析表明, $BMI \geq 28$ 是造成失败率的直接因素之一。由此可见, FibroScan并非适合所有患者使用。其次,有研究^[12]表明, FibroScan的检测结果会受到血液中转氨酶波动的影响。有3项研究^[22,24,25]均认为,肝脏弹性检测得到的数值会随着ALT值升高而升高,导致弹性测定值较高,与患者本身肝纤维化程度并不符合。Arena等^[24]对18例急性病毒性肝炎患者(包括甲型、乙型、丙型肝炎)进行了肝脏硬度与纤维化联系的相关性研究,结果表明肝脏处于急性炎症期时,高ALT血症会严重影响FibroScan的检测结果。Sagir等^[25]同样认为在急性肝炎患者中肝脏弹性测定的结果较肝脏真正的纤维化程度偏高,不能正确反应肝纤维化的真实程度。但是目前的研究并未给出统一的标准说明转氨酶具体升高的数值对FibroScan检测结果偏差多大,仅发现肝脏弹性测定的数值与肝脏炎症及血中转氨酶的数值呈正相关,炎症活动时弹性值升高,好转后弹性值下降^[26]。笔者在临床工作中亦观察到类似的情况,考虑可能在肝脏炎症期间,由于肝细胞损伤、变性、坏死等,导致多种细胞因子合成增加、胶原含量增加,可能也伴随胆汁淤积,这些因素使肝脏硬度增加,还需要进一步相关研究。对于造成FibroScan检测失效原因,除外上述原因,较常见的还包括高胆红素血症、高龄、局部肝硬化形成不规则结节或结节过大、统计学误差等^[27,28]。

3 血清学与影像/物理学方法联合诊断肝纤维化

考虑到FibroScan应用的优势及其局限性, Castera等^[29]产生了一种新的思路,即将FibroScan检测结果与血清无创诊断模型联合应用对肝纤维化程度进行评估,结果认为要比单独采用一种方式诊断效率要更高。通过对183例CHC患者进行前瞻性研究,采用肝纤维化无创模型为Fibrotest,这是一项包含 $\alpha 2$ 巨球蛋白(α -macroglobulin, A2MG)、载脂蛋白A1 (apolipoprotein A1, apoA1)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, GGT)、TBil、透明质酸(hyaluronic acid, HA) 5个参数的复杂模型。此项研究表明,在单独使用该模型诊断 S_2 、 S_4 期肝纤维化时的AUROC

值分别为0.83、0.95。单独采用FibroScan,设定 S_2 、 S_4 时的cut off值分别为7.1、12.5 kPa,则对于肝硬化的阳性预测率和阴性预测率分别为77%、95%。两种方法联合应用后,其诊断 S_2 、 S_4 的AUROC值分别为0.88、0.95,高于单独诊断方法的AUROC值。通过两者联合,可使84%~95%慢性肝炎患者避免行肝组织活检。联合多种无创方法对肝纤维化进行诊断的思路为临床应用中又提供了一条新的渠道。

目前临床上诊断肝硬化的金标准仍是肝组织活检,因其为有创性检查、费用昂贵及其可能出现的并发症,限制了其在临床上的应用。因而,可操作性强、可重复性好,具有高度的准确性和敏感性,同时能动态监测疾病的进展,且无创、价廉是理想的肝纤维化程度的诊断方法。而目前研究发明的肝纤维化无创血清学模型及FibroScan技术均不能完全替代肝组织活检的地位和价值,也无法在临床工作中开展应用于对肝纤维化分级的诊断及疾病进展的随访,亦无足够的临床数据证明其在疾病治疗前后的评估的价值。因此,已有部分学者将研究的目标投向寻找新的单一的血清学指标或研发其他更为有价值的无创诊断方法。

4 其他诊断肝纤维化的无创方法

Rath等^[30]通过对55例不同病因的慢性病毒性肝炎患者(含CHC患者25例,为最大队列)的血清学指标统计分析,发现YKL-40与透明质酸、层粘连蛋白、基质金属蛋白酶-99(matrix metalloproteinase-99, MMP-99)、基质金属蛋白酶抑制因-1(Tissue Inhibitors of Metallo proteinase-1, TIMP-1)、基质金属蛋白酶抑制因-2(Tissue Inhibitors of Metallo proteinase-2, TIMP-2)等相比较,在判断 S_2 和 S_3 时准确性远高于其他指标(AUROC分别为0.792、0.914),与透明质酸诊断肝硬化时的准确度相同(S_4 时AUROC = 0.936)。与FibroScan检测结果对比后发现,YKL-40对 S_3 诊断的准确性要高于肝脏弹性测定的诊断结果(S_3 时AUROC = 0.880),但对 S_2 及 S_4 的诊断准确性则略低。尤其是在CHC患者中,YKL-40的AUROC在 S_2 、 S_3 、 S_4 时分别为0.880、0.854、0.986,高于肝脏弹性测定诊断准确率(S_2 、 S_3 、 S_4 时AUROC分别为0.802、0.798、0.998),尤其是在判断 S_2 、 S_3 时,弥补了肝脏弹性测定的不足。Yukiko等^[31]对109例CHC患者的血清学分析也得到了类似的结果,认为YKL-40对于判断 S_2 及 S_3 的准确度高于其他肝纤维化指标。但由于YKL-40在许多肿瘤性疾病中也有较高的表达,其特异性需要进一步研究证明。还有学者提出 C^{13} 呼气试验,但目前该研究主要用于检测非酒精性脂肪性肝病患者的肝细胞线粒体的功能,此指标在反应肝细胞纤维化方面的作用尚待进一步研究和探索^[32,33]。由此可见,未来的研究热点及主流方向在无创、高准确性、高特异性及便于随访复查等原则不变的情况下有着多种选择。

在探索无创诊断肝纤维化的过程中,虽然研究者们已经开发出了多种无创手段对肝纤维化进行诊断评估,并从理论及方法上不断地对各种诊断方法进行完善,但是此方法目前仍无法完全替代肝组织活检在临床的应用。对于无创诊断模型的诊断价值及应用还有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Dienstag JL. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*,2002,36:152-160.
- [2] Standish RA, Cholonqitas E, Dhillon A, et al. An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis[J]. *Gut*,2006,55:569-578.
- [3] Schlichting P, Holund B, Poulsen H. Liver biopsy in chronic aggressive hepatitis. Diagnostic reproducibility in relation to size of specimen[J]. *Scand J Gastroenterol*,1983,18:27-32.
- [4] Holund B, Poulsen H, Schlichting P. Reproducibility of liver biopsy diagnosis in relation to the size of the specimen[J]. *Scand J Gastroenterol*,1980,15:329-335.
- [5] Lewin M, Poujol-Robert A, Boelle PY, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*,2007,46:658-665.
- [6] Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase to platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review[J]. *Hepatology*,2007,46:912-921.
- [7] Shin WG, Park SH, Jang MK, et al. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index (APRI) can predict liver fibrosis in chronic hepatitis B[J]. *Dig Liver Dis*,2008,40:267-274.
- [8] Adams LA, Bulsara M, Rossi E, et al. Hepascore:an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection[J]. *Clinical Chemistry*,2005,51:1867-1873.
- [9] Cacoub E, Carrat F, Bedossa P, et al. Comparison of non-invasive liver fibrosis biomarkers in HIV/HCV Co-infected patients: the fibrovis study-ANRS HC02[J]. *J Hepatol*,2008,48:765-773.
- [10] Boursier J, Bacq Y, Halfon P, et al. Improved diagnostic accuracy of blood tests for severe fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis C[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*,2009,21:28-38.
- [11] Jung MK, Cho HJ, Lee HC, et al. Comparison of transient elastography and hepatic fibrosis assessed by histology in chronic liver disease[J]. *Korean J Gastroenterol*,2008,51:241-247.
- [12] Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography[J]. *J Hepatol*,2008,48:835-847.
- [13] Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis[J]. *Ultrasound Med Biol*,2003,29:1705-1713.
- [14] Fraquelli M, Riquamonti C, Casazza G, et al. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease[J]. *Gut*,2007,56:968-973.
- [15] Konate A, Diarra A, Kalle A, et al. Liver stiffness measurement by transient elastography: predictive factors of accuracy and reproducibility[J]. *J Hepatol*,2006,44:S195.
- [16] Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*,2005,41:48-54.
- [17] Takeda T, Yasuda T, Nakayama Y, et al. Usefulness of noninvasive transient elastography for assessment of liver fibrosis stage in chronic hepatitis C[J]. *World J Gastroenterol*,2006,12:7768-7773.
- [18] Vergniol J, Foucher J, Castera L, et al. Changes of non-invasive markers and FibroScan values during HCV treatment[J]. *J Viral Hepat*,2009,16:132-140.
- [19] Chan HL, Wong GL, Choi PC, et al. Alanine aminotransferase based algorithms of liver stiffness measurement by transient elastography (Fibroscan) for liver fibrosis in chronic hepatitis B[J]. *J Viral Hepat*,2009,16:36-44.
- [20] Marcellin P, Ziol M, Bedossa P, et al. Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis B using Fibrosan[J]. *Hepatology*,2005,42:715A.
- [21] De Ledinghen V, Douvin C, Kettaneh A, et al. Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients[J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*,2006,41:175-179.
- [22] Coco B, Oliveri F, Maina AM, et al. Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases[J]. *J Viral Hepat*,2007,14:360-369.
- [23] Fraquelli M, Riquamonti C, Casazza G, et al. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease[J]. *Gut*,2007,56:968-973.
- [24] Arena U, Vizzutti F, Corti G, et al. Acute viral hepatitis increase liver stiffness values measured by transient elastography[J]. *Hepatology*,2008,47:380-384.
- [25] Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, et al. Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage[J]. *Hepatology*,2008,47:592-595.
- [26] Wong GL, Wong VW, Choi PC, et al. Clinical factors associated with liver stiffness in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B patients[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*,2009,7:227-233.
- [27] Kim SU, Han KH, Park JY, et al. Liver stiffness measurement using FibroScan is influenced by serum total bilirubin in acute hepatitis[J]. *Liver Int*,2009,29:810-815.
- [28] Millonig G, Reimann FM, Friedrich S, et al. Extrahepatic cholestasis increase liver stiffness (FibroScan) irrespective of fibrosis[J]. *Hepatology*,2008,48:1718-1723.
- [29] Castera L, Vergniol J, Foucher J, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C[J]. *Gastroenterology*,2005,128:343-350.
- [30] Rath T, Roderfeld M, Guler C, et al. YKL-40 and transient elastography, a powerful team to assess hepatic fibrosis[J]. *Scand J Gastroenterol*,2011,46:1369-1380.
- [31] Saitou Y, Shiraki K, Yamanaka Y, et al. Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker: YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease[J]. *World J Gastroenterol*,2005,11:476-481.
- [32] Park GJ, Wiseman E, George J, et al. Non-invasive estimation of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease using the 13 C-caffeine breath test[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2011,26:1411-1416.
- [33] Banasch M, Ellrichmann M, Tannapfel A, et al. The non-invasive (13) C- methionine breath test detects hepatic mitochondrial dysfunction as a marker of disease activity in non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Eur J Med Res*,2011,16:258-264.