

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL GASTROENTEROLOGIE**

***Evaluarea steatofibrozei hepatice, sindromului metabolic si a
complicatiilor acestora la pacientii transplantati hepatic***

Rezumatul tezei de doctorat

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. LILIANA GHEORGHE**

**Student-doctorand:
CARMEN-CRISTINA ESTER**

2019

Cuprins

INTRODUCERE	1
I. Partea generală	7
1. EPIDEMIOLOGIE, ISTORIE NATURALĂ SI PATOGENEZĂ.....	8
1.1. EPIDEMIOLOGIE	9
1.2. ISTORIE NATURALĂ A BOLII	9
1.3. PATOGENEZA.....	10
1.3.1. Factori de risc	10
1.3.2. Progresia fibrozei.....	11
1.3.3. Mediatori ai fibrogenzei	12
1.3.4. Rolul microbiomului intestinal in progresia NAFLD	14
1.3.5. Influența genetică in NAFLD	15
2. DIAGNOSTIC ȘI COMPLICAȚII.....	17
2.1. DIAGNOSTIC	17
2.1.1. Diagnosticul in practica clinică	18
2.1.2. Diagnosticul histologic.....	19
2.1.3. Diagnosticul non-invaziv.....	19
2.1.4. Tehnici imagistice	19
2.2. BIOMARKERI SERICI SI PANELURI DE BIOMARKERI.....	20
2.2.1. Biomarkeri pentru NAFLD.....	23
2.2.2. Biomarkeri pentru steatohepatită.....	23
2.2.3. Biomarkeri pentru fibroza avansată.....	25
2.2.3.1. Biomarkeri genetici.....	25
2.2.4. Biomakeri pentru viitor	26
2.2.5. Citokine	27
2.2.5.1. Factorul de creștere hepatocitară (HGF)	27
2.2.5.2. Anhidraza carbonică IX	28
2.2.5.3. CXCL-10	29
2.2.5.4. CXCL-12	30
2.2.5.5. Integrina beta-7	31
2.2.6. Este necesară biopsia hepatică?.....	32
2.3. SCREENINGUL PENTRU NAFLD.....	33

2.4.	COMPLICAȚIILE CARDIOMETABOLICE	34
2.4.1.	Mecanisme fiziopatologice comune	35
2.4.2.	Riscul crescut de evenimente cardiovasculare	36
2.4.3.	Prevenția primară	37
2.4.4.	Prevenția secundară.....	38
2.4.5.	Ficatul gras la pacienții fără exces ponderal.....	38
3.	TRATAMENT SI DIRECȚII VIITOARE.....	40
3.1.	MĂSURI IGIENO-DIETETICE	40
3.1.1.	Chirurgia bariatrică	42
3.1.2.	Consumul de cafea	42
3.1.3.	Consumul de carne roșie și produse din carne procesate.....	43
3.2.	TRATAMENTE ADJUVANTE.....	43
3.2.1.	<i>Tratamentul sindromului metabolic</i>	45
3.3.	PERSPECTIVE PENTRU VIITOR	46
3.3.1.	<i>Modelare 2016-2030</i>	46
3.4.	MODIFICAREA FACTORILOR DE MEDIU	46
II.	Contribuții personale	49
4.	IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE	50
5.	METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII.....	51
5.1.	CRITERII DE INCLUDERE ÎN STUDIU	51
5.2.	PROTOCOLUL DE STUDIU	51
5.3.	PRELUCRAREA STATISTICĂ A DATELOR	54
6.	STUDIUL 1. INTEGRINA BETA-7 SI ANHIDRAZA CARBONICĂ IX ÎN DETECȚIA PRECOCE A STEATOZEI ȘI FIBROZEI HEPATICE LA PRIMITORII DE GREFE HEPATICE	56
6.1.	INTRODUCERE:	56
6.2.	PACIENȚI ȘI METODE:.....	56
6.3.	REZULTATE	57
6.4.	DISCUȚII:	58
6.5.	CONCLUZII.....	59
7.	STUDIUL 2. ROLUL CXCL-10 IN PREDICȚIA SINDROMULUI METABOLIC ȘI A RISCOLUI CARDIO-VASCULAR LA PACIENȚII TRANSPLANTAȚI HEPATIC.	60
7.1.	INTRODUCERE.....	60
7.2.	PACIENȚI ȘI METODĂ	60
7.3.	REZULTATE	60

7.4.	DISCUȚII	63
7.5.	CONCLUZII:	64
8.	STUDIUL 3. TESTAREA GENETICĂ SI UTILITATEA BIOMARKERILOR SERICI LA PACIENȚII CU STEATOZĂ HEPATICĂ ȘI SINDROM METABOLIC	65
8.1.	INTRODUCERE.....	65
8.2.	PACIENȚI SI METODĂ	65
8.3.	REZULTATE	66
8.4.	DISCUȚII:	71
8.5.	CONCLUZII:	72
9.	STUDIUL 4. INTEGRAREA TESTĂRII GENETICE ȘI A BIOMARKERILOR SERICI PENTRU PREDICȚIA STEATOZEI ȘI FIBROZEI HEPATICE CA FACTORI DE RISC PENTRU SINDROMUL METABOLIC	75
9.1.	INTRODUCERE:	75
9.2.	PACIENȚI ȘI METODA	76
9.3.	REZULTATE:	76
9.4.	DISCUȚII:	122
9.5.	CONCLUZII:	125
10.	CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE	127
	BIBLIOGRAFIE	131

Partea generală

Boala hepatică non-alcoolică este în continuă progresie și se prefigurează a fi cea mai frecventă cauză de boală hepatică cronică din lume. În prezent are o prevalență de 17-46% în țările vestice, creșterea acesteia fiind corelată cu componentele sindromului metabolic care cresc și riscul de progresie a bolii. Cu toate acestea poate fi întâlnită și la 7% dintre cei cu greutate normală (Younossi ZM, 2012).

Spectrul ficatului gras implică steatoza pură (steatoza și inflamație ușoară), steatohepatita (fibroza ușoară <F2 sau semnificativă ≥F2), ciroza (fibroza F4) și hepatocarcinom. Pașii în evoluția naturală a bolii pot fi spre ficat gras fără steatohepatită care se caracterizează prin boală stabilă de-a lungul anilor și o rată scăzută de morbi-mortalitate de cauză hepatică sau spre dezvoltarea steatohepatitei ce se caracterizează prin risc crescut de progresie către ciroză și mortalitate crescută în special din cauza complicațiilor cardiovasculare (Nasr P, 2017).

Evoluția naturală poate urma 2 căi: ficatul gras fără risc de progresie către steatohepatită („non-NASH”) care nu prezintă o rată crescută a mortalității de cauză hepatică și ficatul gras cu risc crescut de progresie către steatohepatită și, mai departe către ciroza hepatică care implică o mortalitate crescută atât de cauză cardiovasculară cât și din cauza neoplasmelor non-hepatice (Mohamad B, 2016).

Este important să recunoaștem că cei mai mulți pacienți cu ciroză hepatică criptogenică ar putea avea la originea bolii o steatohepatită cu trăsături șterse (“burned-out”). Acești pacienți prezintă o prevalență crescută a sindromului metabolic (în special diabet zaharat și obezitate), dar a căror evaluare histologică nu arată nici măcar steatoză hepatică în prezența cirozei hepatice (Brown GT, 2016).

În capitolul 1 am discutat problema epidemiologiei, istoriei naturale și patogenezei acestei afecțiuni. Fibroza hepatică apare la 40-50% dintre pacienții cu steatohepatită non-alcoolică și estimările sunt că 30-40% dintre pacienții cu NAFLD dezvoltă steatohepatită (Ekstedt M F. L., 2006). Un studiu extensiv recent efectuat pe o perioadă semnificativă de timp (>26 de ani) confirmă teoria conform căreia fibroza hepatică este principalul determinant al

mortalității de toate cauzele, dar și specifică bolii în cazul pacienților cu NAFLD confirmat histologic (Ekstedt M H. H., 2014).

În NAFLD ca factori predispozanți pe lângă alimentație a fost identificată, odata cu studiile ample genomice, substituția de aminoacizi p.I148M din cadrul lipazei asociate acumulărilor lipidice din trigliceride PNPLA3 (denumită și adiponutrina). Existența acestui polimorfism este întâlnită la aproximativ 30% din populația Europei, și se asociază cu un risc crescut de 3X față de populația generală de a dezvolta boală hepatică rapid progresivă și de 12x față de populația generală de a dezvolta hepatocarcinom (Karlsen, 2015).

Citokinele și factorii de creștere sunt mici molecule solubile ce asigură comunicarea intracelulară și răspunsul metabolic tisular. Ele sunt secretate de celule imune, pericite, celule endoteliale, dar și de colangiocite. Prototipul de citokină pro-fibrogenetică este TGF- β ce promovează proliferarea și activarea celulelor progenitoare și a pericitelor, fiind crescută producția sa în cadrul bolilor cronice hepatice (Dooley S, 2011).

Un alt mecanism esențial în instalarea fibrozei, asociat și inflamației cronice este recrutarea de celulele active imunologic, precum celulele B și T activate, natural killer T, macrofage și celule limfoide. Pentru asigurarea prezenței acestor celule la nivel hepatic este nevoie de chemokine și molecule de adeziune în cadrul epiteliului sinusoidal. Aceste chemokine printre care CXCL-10, CXCL-11 și CXCL-16 promovează acumularea hepatică de celule natural killer T care secretă molecule pro-fibrogenetice (Syn WK, 2012).

Gena PNPLA3, proteina transmembranară ce codifică adiponutrina (o proteină de 481 de aminoacizi ce aparține familiei de hidrolaze ale lipidelor) este întâlnită în țesutul hepatic și adipos (Baulande S, 2001).

Un studiu recent (Kozlitina J, 2014) a sugerat pentru prima dată implicarea variantei E167K a genei TM6SF2 rs58542926 ca un alt polimorfism nucleotidic, asociat PNPLA3, implicat în patogeneza și progresia NAFLD, aceasta apărând prin înlocuirea glutamatului cu lizină în codonul 167 (E167K). Cu toate că funcția biologică a proteinei codificate de gena TM6SF2 nu este complet cunoscută aceasta se află intrahepatocitar la nivelul reticulului endoplasmic afectând mecanismul de eflux al lipidelor din celulele hepatice, astfel crescând atât dimensiunea picăturilor lipidice cât și numărul acestora (Mahdessian H, 2014).

În capitolul 2 ale tezei am discutat probleme legate de diagnostic și complicațiile cele mai frecvente în aceasta patologie. Simptomatologia în cazul pacienților cu ficat gras non-

alcoolic nu este foarte exprimată, cei mulți pacienți fiind fără acuze, iar câțiva acuzând durere în hipocondrul drept, oboseală și fatigabilitate.

Esențial în diagnostic dar și în management este distincția dintre ficatul gras non-alcoolic și steatohepatită, dar fiindcă aceasta din urmă are o evoluție rapid progresivă asociind complicații și comorbidități (Ekstedt M N. P., 2017).

Factorul de creștere hepatocitară este o citokină pleiotropă formată dintr-un domeniu α și un domeniu β , al cărei receptor este o protooncogenă, produs al receptorului de tirozin-kinază transmembranar. Semnalizarea transmisă de HGF prin intermediul receptorului său produce un răspuns biologic dinamic ce susține morfogeneza și regenerarea țesuturilor hepatice, renale și neuronale (Imamura R, 2017).

Studii recente au arătat că HGF mediază inflamația acută și cronică prin controlul la nivel central al evenimentelor inflamatorii și autoimune, având practic o bază comună pentru mai multe organe și sisteme (Nakamura, 2011).

Anhidraza carbonică IX este o zinc metaloenzima și este o enzimă cheie în modularea pH-ului celular. În țesuturile normale expresia CAIX este limitată la nivelul intestinului subțire. Niveluri foarte scăzute au fost raportate și la nivelul membranei bazo-laterale din epiteliul acinar și ductul pancreatic și în epiteliul ductului aferent masculin (Kivela AJ, 2000).

CXCL-10 este o citokină mică ce aparține familiei de chemokine CXC, responsabilă pentru mobilizarea și traficul leucocitelor și acționează asupra celulelor tisulare precum cele endoteliale sau mușchiul neted vascular. Această citokină este secretată de către leucocite și celule tisulare și funcționează în principal ca un chemoattractant, în special pentru limfocite. După legarea de receptorul său CXCR3, CXCL-10 dezvoltă o serie de trăsături proinflamatorii. CXCL-10 este cunoscută și ca proteina 10 indusă de interferon (IP-10) pentru că poate fi secretată prin producția interferonului gamma (IFN- γ) de către mai multe tipuri de celule cum ar fi celulele endoteliale, fibroblaștii, keratinocitele, monocitele și limfocitele T (Luster AD, 1987), dar secreția sa poate fi indusă și de lipopolizaharide sau citokine inflamatorii cum sunt IFN-alfa, IFN-beta sau factorul de necroză tumorală alfa (Ohmori Y, 1995).

CXCL-12, cunoscut și ca factorul derivat din celulele stromale (SDF1), formează o rețea chemokinică importantă, cu distribuție largă la nivelul organismului, implicată în traficul de celule T și macrofage, dar și în angieneză și progresie tumorală. Acesta aparține familiei de chemokine CXC, iar expresia sa este indusă de mai mulți factori, inclusiv de alte citokine și

factori de creștere. CXCL-12 se leagă de receptorul său CXCR4. Calea CXCL-12 / CXCR4 este implicată în determinarea țesutului țintă al fibrocitelor. Fibrocitele exprimă uniform CXCR4.

Studii recente arată că o pierdere de MAdCAM-1 conferă protecție împotriva dezvoltării steatohepatitei în timp ce un deficit de integrina beta-7 promovează steatohepatita și modificările infiltrării celulelor imune și răspunsul la stresul oxidativ. Se pare că supresia completă a activității integrinei beta-7 poate fi asociată cu un risc crescut de leziuni hepatice (Drescher, 2017).

Biopsia hepatică este un subiect intens discutat în diagnosticul patologiei hepatice induse de acumularea de grăsime. Cu toate că aceasta este expusă erorilor de apreciere, întrucât evaluează 1:50000 din ficat, încă este considerată standardul pentru diagnosticul steatohepatitei și nicio metodă non-invazivă nu a dovedit rezultate similare.

Apariția complicațiilor cardiovasculare în ficatul gras non-alcoolic, dar mai ales în stadiul următor de steatohepatită a fost asociată din punct de vedere etiologic mecanismului de instalare a aterosclerozei: dislipidemie aterogenetică, rezistență la insulină, inflamație, stress oxidativ (Speliotes EK1, 2010).

Mutația în gena PNPLA3 pare să aibă efect pe accelerarea procesului de ateroscleroză (Petta S, 2013), dar, paradoxal asociat cu scăderea nivelurilor serice de trigliceride (Palmer CN, 2012). TM6SF2 are rolul de a modula secreția de trigliceride și colesterol din ficat prin excreția VLDL. Purtătorii mutației în această gena au risc crescut de dezvoltarea NAFLD din cauza acumulării de trigliceride și lipide în ficat, dar totodată se pare că beneficiază de cardioprotecție prin nivelurile circulante scăzute de trigliceride, LDL-colesterol și colesterol total (Dongiovanni, 2015).

Capitolul 3 al părții generale s-a axat pe tratamentul acestei afecțiuni, analizând în același timp și perspectivele pentru viitor în managementul acestor pacienți.

Sindromul metabolic și ficatul gras non-alcoolic împărtășesc caracteristici fiziopatologice comune prin faptul că ficatul regelează 2 dintre trăsăturile cheie ale sindromului metabolic: glicemia a jeun și VLDL seric care conține cantitatea cea mai mare de trigliceride circulante. În cazul pacienților cu steatoză hepatică nu poate suprima producția de glucoză și VLDL, fapt ce conduce la hiperglicemie, hipertrigliceridemie. Deasemenea, ficatul gras duce și la creșterea producției de molecule ce reprezintă factori de risc cardio-vasculari precum proteina C reactivă, fibrinogenul și factori de coagulare (Yki-Järvinen, 2014)

Ipoteza de cercetare

Date prezentate de Organizația Mondială a Sănătății estimează că epidemia din prezent a obezității nu face altceva decât să alimenteze componentele sindromului metabolic și astfel povara clinică și economică a bolii ficatului gras non-alcoolic va crește semnificativ în următorii ani.

S-a înregistrat o creștere generală a prevalenței NAFLD, cu liderul creșterii fiind țările asiatice, dar totuși Statele Unite rămân între liderii din acesta patologie cu o creștere a prevalenței de la 15% în 2005 la 25% în decurs de 5 ani. NAFLD este asociat în mod obișnuit cu comorbidități metabolice, incluzând obezitatea, diabetul zaharat de tip II, dislipidemie până la diagnosticul de sindromul metabolic.

Patologia ficatului gras non-alcoolic nu este pe deplin înțeleasă și încă evoluează în lumea științifică, astfel încât am considerat o arie de interes deosebit și am ales să ne axăm pe o populație specială de pacienți – primitorii de grefe hepatice.

Obiectivele cercetării

Principalele obiective ale prezentei teze doctorale au fost reprezentate de

- Evaluarea prevalenței și factorilor de risc pentru dezvoltarea steatozei hepatice, fibrozei hepatice și sindromului metabolic
- Testarea unor potențiali biomarkeri pentru diagnosticul NAFLD și includerea lor în modele de predicție
- Identificarea rolului testării genetice în diagnosticul și managementul steatozei hepatice, steatohepatitei și fibrozei
- Includerea pacienților în grupe de risc pentru identificarea celor care ar beneficia de screening, în special pentru complicații cardiovasculare.

Metodologia de cercetare

Am efectuat un studiu prospectiv, observațional ce a inclus 61 de pacienți transplantați hepatic în perioada 2015-2016 ce au fost urmăriți pretransplant (T0) și până la 1-2 ani posttransplant hepatic (T1 și respectiv T2) prin criterii antropometrice, demografice, clinice, biologice și imagistice în vederea diagnosticului steatozei hepatice, fibrozei hepatice, dezvoltării sindromului metabolic și a comorbidităților (în special pentru apariția diabetului zaharat și a complicațiilor cardiovasculare).

Criteriile de includere în studiu au fost:

- Vârsta peste 18 ani
- Pacienți cu domiciliul în România
- Pacienți transplantați hepatic în perioada 2015-2016
- Internare în clinică în perioada de desfășurare a studiului, pentru investigații sau manevre terapeutice
- Semnarea consimțământului informat

Criteriul de excludere din studiu a fost refuzul semnării consimțământului informat.

Colectarea și înregistrarea datelor s-au realizat prospectiv, fiind selectați pacienții aflați pe lista de așteptare pentru transplant hepatic și care au primit o grefă hepatică în perioada 1 ianuarie 2015 – 30 decembrie 2016. Datele epidemiologice au fost colectate direct de la pacienți iar cele biologice, imagistice au fost preluate din sistemul informatic centralizat al Institutului Clinic Fundeni și actualizate la fiecare moment în evoluția pacienților.

A fost prelevat sânge venos la fiecare vizită pentru evaluarea în dinamică a noilor biomarkeri propuși pentru evaluarea non-invazivă a steatozei și fibrozei hepatice și o singură dată pentru testarea genetică. Probele au fost stocate până la momentul prelucrării în cadrul Laboratorului de biochimie al Institutului Clinic Fundeni.

Toate datele au fost introduse într-un registru electronic în format Excel.

Studiul a fost aprobat de către Comisia de Etică a Institutului Clinic Fundeni, iar analiza statistică și reprezentările grafice au fost realizate inițial pentru primele 2 studii prin intermediul programului MedCalc Statistical Software version 18.2.1 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <http://www.medcalc.org>; 2018), apoi pentru ultimele 2 studii cu ajutorul programului R versiunea 3.5.3 (2016-05-03) -- copyright R Core Team (2019). R: A language

and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Vienna, Austria. URL : <https://www.R-project.org/>.

Contribuția personală

Studiul 1. Integrina beta-7 și anhidraza carbonică IX în detecția precoce a steatozei și fibrozei hepatice la primitorii de grefe hepatice

Pacienți și metodă Am evaluat 60 de pacienți transplantați hepatic prin caracteristici clinice și biologice. Toți pacienții au efectuat ecografie abdominală și elastografie tranzitorie (TE) Fibroscan® cu parametru controlat al atenuării (CAP), au fost calculate scoruri non-invazive pentru fibroza avansată și NAFLD (APRI, FIB-4, NAFLD), pentru riscul cardiovascular (scorul de risc Framingham) și pentru prezența sindromului metabolic.

Prezența sindromului metabolic a fost evaluată utilizând criteriile American Heart Association care necesită 3 sau mai multe dintre următoarele pentru a pune diagnosticul: obezitatea abdominală, trigliceridele crescute (TG) sau terapia de scădere a trigliceridelor, colesterolul HDL scăzut, glucoză crescută pe bază de glucoză / terapie de scădere a glucozei.

Rezultate Analiza univariată a evidențiat o asociere semnificativă între biomarkeri și fibroza hepatică evaluată cu o valoare limită a fibrozei avansate de 8,7 kPa, dar și unii dintre parametrii biochimici ai fiecărui pacient (plachete, AST, GGT). Analiza de regresie multivariată a identificat nivelul seric al valorilor anhidrazei carbonice IX și valoarea CAP ca factori de risc independenți pentru fibroza avansată.

Concluzii Dezvoltarea unui model de diagnostic noninvaziv bazat pe biomarkeri serici pentru diagnosticarea precoce a NAFLD și NASH este foarte importantă deoarece "standardul de aur" al biopsiei hepatice nu este ușor acceptat în practica clinică, în special în contextul postr transplant hepatic. De asemenea, NAFLD și NASH sunt procese dinamice care necesită evaluări prospective în dinamica, fapt greu de realizat prin biopsia clasică hepatică.

Studiul 2. Rolul CXCL-10 în predicția sindromului metabolic și a riscului cardiovascular la pacienții transplantați hepatic.

Pacienți și metodă Au fost evaluați 60 de primitori de grefe hepatice la 6-12 luni post-transplant prin caracteristici clinice și biologice (enzime hepatice, colesterol, trigliceride, glicemie, feritină, uree, creatinină, proteină C reactivă). Indicele de masă corporală (BMI), circumferința taliei, trigliceridele, HDL-colesterolul, glicemia și tensiunea arterială au fost integrate în criteriile Federației Internaționale de Diabet pentru a defini sindromul metabolic.

Ecografia abdominală și elastografia tranzitorie (TE) cu parametru controlat de atenuare (CAP) s-au efectuat pentru toți pacienții și s-au calculat scorurile neinvazive pentru fibroza avansată (APRI, FIB-4) și scorul NAFLD. Riscul cardiovascular a fost evaluat utilizând scorul de risc Framingham și prezența sindromului metabolic.

Au fost utilizate imunoteste specifice și sensibile enzimatic pentru determinarea concentrațiilor sangvine de CXCL-10 de la R & D Systems (Minneapolis, MN, SUA). Limita inferioară de detecție (sensibilitatea) a fost de 5,01 pg/ml.

Rezultate Analiza multivariată indică feritina ($p = 0,03$) și ureea ($p = 0,02$), ca factori de predicție independenți pentru valorile mai mari ale scorului Framingham; valorile serice ale CXCL-10 au arătat o corelație semnificativă cu ambele teste.

Corelația Spearman a arătat o asociere semnificativă între concentrațiile plasmatice de CXCL10 și feritină ($p = 0,04$), uree ($p = 0,003$), dar și cu acidul uric ($p = 0,04$), factor de risc cunoscut pentru mortalitatea cardiovasculară, rezultat ce întărește implicațiile acestuia în inflamație, dar și în apariția sindromului metabolic.

Concluzii Nivelul seric al CXCL10 ar putea avea un rol important în evaluarea riscului cardiovascular la pacienții cu transplant hepatic, în special atunci când există concomitent și alte caracteristici ale sindromului metabolic.

Deoarece complicațiile cardiovasculare reprezintă principalul risc de mortalitate la pacienții cu NAFLD / NASH, obținerea unui diagnostic în stadiu incipient și o evaluare dinamică utilizând biomarkeri serici poate fi o îmbunătățire majoră pentru calitatea vieții acestor pacienți.

Studiul 3. Testarea genetică și utilitatea biomarkerilor serici la pacienții cu steatoză hepatică și sindrom metabolic

Pacienți și metodă Au fost incluși în studiu 61 de pacienți transplantați hepatic pe o perioadă de 2 ani în perioada 1 ianuarie 2015 – 30 decembrie 2016

S-a făcut un studiu prospectiv, observațional, nerandomizat pe un eșantion de 61 de pacienți cu transplant hepatic în antecedente, internați în Clinica de Gastroenterologie și Hepatologie din cadrul Institutului Clinic Fundeni, eșantion reprezentativ pentru populația de pacienți cu transplant hepatic din România, tratați într-un centru de excelență de transplant hepatic din România.

Scopul acestui studiu a fost acela de a identifica rolul testării genetice și utilitatea biomarkerilor serici în cazul pacienților transplantați hepatic pentru a identifica timpuriu fibroza hepatică, principalul predictor pentru progresie și pentru apariția complicațiilor în cazul pacienților cu ficat gras non-alcoolic.

Pentru biomarkerii analizați, atât în cazul CXCL-10, cât și pentru CXCL-12 au fost utilizate kituri Quantikine Elisa de la R&D Systems. Am ales CXCL-10 pentru capacitatea de a stimula migrarea limfocitelor T și NK, de a regla gradul de maturizare a limfocitelor T și de a modula moleculele de adeziune exprimate ca expresia inflamației imune mediate în boala ficatului gras non-alcoolic (Wang Y, 2017). CXCL-12 este o chemokină mai puțin obișnuită, descrisă inițial ca un chemoattractant pentru limfocite și monocite pare să accelereze proliferarea limfocitelor B sugerând că ar putea fi mai degrabă un agent de supraveghere imunologică decât al răspunsului inflamator (Guyon, 2014).

Testarea genetică a fost efectuată pentru polimorfismul cu un singur nucleotid în genele PNPLA3 și TM6SF2 utilizând testul de genotipare SNP pre-proiectat automatizat TaqMan.

Rezultate Rezultatele acestui studiu au arătat că atât mutațiile în gena PNPLA3 cât și o valoare a CXCL-10 de peste 350 pg/ml sunt factori de risc pentru apariția fibrozei hepatice.

Ca urmare am efectuat și analiza de regresie logistică multivariată, iar rezultatele au arătat că polimorfismul genei PNPLA3 și valoarea serică a CXCL-10 peste 350 pg/ml sunt factori de risc independenți pentru fibroză.

Concluzii Polimorfismul genetic și impactul factorilor de mediu joacă un rol-cheie în dezvoltarea și progresia ficatului gras non-alcoolic către fibroză avansată. Predispoziția

pacienților transplantați hepatic pentru sindromul metabolic și asocierea crescută a celor două polimorfisme genetice testate la pacienții noștri cu indice de masă corporală mai mare și cu scorul de risc Framingham mai mare sugerează necesitatea efectuării testelor genetice la pacienții aflați pe lista de așteptare pentru transplant hepatic sau la scurt timp după transplantul hepatic pentru implementarea unor măsuri profilactice, cum ar fi dieta personalizată și evaluări cardiologice regulate.

Biomarkerii cum ar fi CXCL-10 ar putea fi utili pentru a încadra pacienții în grupele de risc și astfel pentru a direcționa testarea genetică către pacienții care a beneficia cel mai mult de aceasta. Scorurile non-invazive pentru diagnostic ar putea include noi biomarkeri dar și polimorfismele genelor implicate în boala ficatului gras non-alcoolic pentru a face un pas înainte în înlocuirea biopsiei hepatice ca standard de aur în diagnosticul acestei maladii.

Studiul 4. Integrarea testării genetice și a biomarkerilor serici pentru predicția steatozei și fibrozei hepatice ca factori de risc pentru sindromul metabolic

Pacienți și metodă Pe lângă biomarkerii apreciați în studiile precedente (integrina beta-7, CXCL-10 și CXCL-12) au mai fost testate în rândul pacienților transplantați hepatic anhidraza carbonică IX (AC IX) și factorul de creștere hepatocitară (HGF). Aceștia au fost integrați cu variabilele clinice, biologice și demografice ale pacienților noștri, dar și cu rezultatele testării genetice pentru polimorfismele genelor PNPLA3 și TM6SF2 și evaluate într-o amplă analiză statistică întregului lot de pacienți utilizând programul de analiză statistică R.

Concluzii În lotul studiat 53% dintre pacienți au avut fibroză hepatică. Pentru a investiga rolul (riscul) jucat de diferiți parametri demografici, genetici și clinici în dezvoltarea acestui sindrom, se folosește o regresie logistică binomială, variabila dependentă fiind existența fibrozei hepatice (variabilă binară cu posibile valori da/nu), în vreme ce variabilele independente au fost parametrii clinici din studiu.

Doua treimi dintre pacienți au un grad de steatoză hepatică, valori mai îngrijorătoare decât analiza fibrozei hepatice.

Analiza factorilor predictivi pentru steatoza hepatică cu semnificație statistică a existat pentru indicele de masă corporală, astfel încât o creștere cu 1 unitate a BMI este asociată cu o creștere a riscului de steatoză hepatică cu 37%.

Analiza factorilor predictivi pentru apariția sindromului metabolic a identificat ca predictorii independenți pentru apariția sindromului metabolic varianta GG a genotipului PNPLA3 și numărul de trombocite.

Modelul propus pentru diagnosticul sindromului metabolic a arătat o arie de sub curbă de 0.80 ceea ce arată o acuratețe bună pentru factorii predictivi propuși pentru diagnosticul sindromului metabolic, chiar dacă pentru a atinge o specificitate de 95% sensibilitatea a fost de numai 13%.

Analiza efectuată arată următoarele : un efect cu semnificație statistică a existat pentru vârstă, o creștere cu 1 an a vârstei fiind asociată cu o scădere de 10% a riscului de NAFLD.

În analiza factorilor predictivi pentru scorul de risc cardiovascular Framingham a fost evidențiată o posibilă influență a HGF, o creștere cu 1 unitate fiind asociată cu o creștere a riscului cardiovascular cu 0.07%, dar dovezile sunt inconcludente la $p = 0.07$. Totuși acest biomarker ar putea fi evaluat în studii mai ample populaționale având un potențial crescut pentru a încadra pacienții aflați la risc de a dezvolta complicații cardio-vasculare, care reprezintă în prezent principala cauză de morbiditate și mortalitate în rândul pacienților cu sindrom metabolic.

Biomarkerii sunt o necesitate absolută pentru diagnosticul și managementul bolii hepatice non-alcoolice, fie că este vorba despre stadii incipiente (steatoză simplă), fie că sunt forme progresive (steatohepatita). CXCL-10 are un potențial excelent în acest sens, fiind în studiul nostru excelent corelat atât cu steatoza cât și cu gradul de fibroză hepatică. Pentru validarea lui în practica clinică este nevoie de evaluare în studii mai mari pe o populație mai variată, mai puțin specifică decât populația specială testată în studiul nostru. Desigur că testarea lui inițială într-o populație cu rate crescute de steatoză, fibroză hepatică și sindrom metabolic conferă un avantaj studiului nostru deoarece crește semnificația rezultatelor obținute, chiar pe un lot nu foarte extins de pacienți.

Deasemenea factorul de creștere hepatocitară (HGF) are un potențial ca biomarker în acest domeniu probabil prin rolul de adipokina. Faptul că am obținut o asociere aproape de limita statistică atât în ceea ce privește riscul cardiovascular, cât și ca factor de predicție pentru ficatul gras non-alcoolic îl face extrem de util pentru diagnostic și pentru încadrarea pacienților în grupe de risc și urmărirea la intervale regulate pentru apariția complicațiilor.

Polimorfismul GG în genă PNPLA3 poate fi util pentru testarea pacienților încadrați la risc dată fiind asocierea sa semnificativă cu apariția sindromului metabolic.

Concluzii și contribuții personale

Prin coroborarea informațiilor rezultate la analiza lotului de 60 de pacienți pentru primele 2 studii și respectiv 61 de pacienți pentru ultimele 2 studii, toți transplantați hepatic și urmăritți prospectiv pretransplant și la 2 intervale diferite posttransplant se formulează următoarele concluzii:

1. Studiul nostru a demonstrat că nivelurile serice ale anhidrazei carbonice IX pot fi utilizate ca factor de risc independent pentru predicția fibrozei avansate la pacienții transplantați hepatic, cu o corelație statistică pozitivă atât cu valorile rigidității hepatice, cât și cu modelele de predicție neinvazivă pentru fibroza avansată.
2. Acesta este primul studiu care demonstrează utilitatea nivelurilor serice ale integrinei beta 7 și anhidrazei carbonice IX ca biomarkeri pentru fibroza moderată și avansată la NAFLD, în general, dar mai ales în cazul populației speciale de pacienți transplantați hepatic.
3. Analiza multivariată indică feritina ($p = 0,03$) și urea ($p = 0,02$), ca factori de predicție independenți pentru valorile mai mari ale scorului Framingham; valorile serice ale CXCL-10 au arătat o corelație semnificativă cu ambele teste.
4. Corelația Spearman a arătat o asociere semnificativă între concentrațiile plasmatice de CXCL10 și feritină ($p = 0,04$), uree ($p = 0,003$), dar și cu acid uric ($p = 0,04$), factor de risc cunoscut pentru mortalitatea cardiovasculară, rezultat ce întărește implicațiile acestuia în inflamație, dar și în apariția sindromului metabolic.
5. Nivelul seric al CXCL10 ar putea avea un rol important în evaluarea riscului cardiovascular la pacienții cu transplant hepatic, în special atunci când există concomitent și alte caracteristici ale sindromului metabolic.
6. Analiza de regresie logistică univariată pentru predictorii sindromului metabolic a arătat că polimorfismul genei PNPLA3, altul decât CC este asociat cu un risc mai scăzut pentru a dezvolta sindrom metabolic.

7. Atât mutațiile în gena PNPLA3 cât și o valoare a CXCL-10 de peste 350 pg/ml sunt factori de risc pentru apariția fibrozei hepatice.
8. Pentru polimorfismul rs738409 din gena PNPLA3 se observă o scădere progresivă a valorilor medii ale colesterolului seric, atunci când mutația este prezentă (de la 176 mg / dl pentru varianta CC, la 170 mg / dl pentru varianta CG și până la 165 mg / dl pentru varianta GG) și o ușoară creștere a concentrațiilor serice medii ale trigliceridelor de la 106 mg / dl în varianta CC la 126 mg / dl în cazul variantei GG. IMC a fost în concordanță cu aceleași constatări ca nivelurile de colesterol, cu IMC mai scăzut pentru mutația homozigotă.
9. Varianta rs58542926 C> T din gena TM6SF2 nu a prezentat aceeași tendință, dar lipsa pacienților cu mutație homozigotă cu siguranță afectează calitatea rezultatelor. Observațiile noastre au oferit o valoare medie mai mare a colesterolului total pentru mutația heterozigotă și o valoare mediană mai scăzută pentru trigliceridele serice. De această dată, colesterolul seric a fost în concordanță cu tendința BMI cu valori mai mari pentru mutația heterozigotă.
10. Rezultatele analizei de regresie logistică multivariată au arătat că polimorfismul genei PNPLA3 și valoarea serică a CXCL-10 peste 350 pg/ml sunt factori de risc independenți pentru fibroză.
11. Studiul nostru a arătat o asociere pozitivă în cazul mutației homozigote (GG) din gena PNPLA3 rs738409 cu fibroza hepatică avansată atât în analiza uni cât și multivariată.
12. Rezultatele studiului nostru arată o asociere semnificativă între grade avansate ale fibrozei și valoarea serică a CXCL-10 cu un cutoff de 350 pg/ml, permițând astfel o monitorizare atentă a activității bolii și prevenind complicațiile.
13. În lotul studiat 53% dintre pacienți au avut fibroză hepatică.
14. Concluziile analizei de regresie univariată au arătat următoarele : efecte cu semnificație statistică ($p < 0.05$) au existat pentru următorii parametri : sexul masculin, care are un risc de fibroză de peste 5 ori mai mic la sexul feminin; în ceea ce privește indicele de masă corporală, o creștere cu 1 unitate a BMI este asociată cu un risc de fibroză cu 18% mai mare.

15. Dintre biomarkerii testați pentru CXCL10 s-a observat că o creștere cu 1 unitate a acestuia este asociată cu o creștere a riscului de fibroză cu 0.8%. Pentru anhidraza carbonică IX, o creștere cu 1 unitate este asociată cu o creștere a riscului de fibroză cu 1%; În ceea ce privește integrina Beta-7, o creștere cu 1 unitate este asociată cu o creștere a riscului de fibroză cu 39%.
16. Analiza enzimelor hepatice a arătat pentru AST că o creștere cu 1 unitate este asociată cu o creștere de 2% a riscului de fibroză; Pentru valoarea serică a albuminei analiza a arătat că o creștere cu 1 unitate este asociată cu o scădere cu 80% a riscului de fibroză hepatică.
17. În analiza multivariată concluziile sunt că predictorii independenți pentru dezvoltarea fibrozei hepatice sunt: indicele de masă corporală, sexul pacientului și valoarea serică a CXCL10.
18. Predictorii independenți în analiza multivariată pentru apariția steatozei hepatice au fost indicele de masă corporală și valoarea serică a unuia dintre biomarkerii propuși de către acest studiu: CXCL10.
19. În urma analizei au fost identificați ca predictorii independenți pentru apariția sindromului metabolic varianta GG a genotipului PNPLA3 și numărul de trombocite.
20. Analiza factorilor ce influențează scorul de risc cardiovascular Framingham a arătat că a fost evidențiată o posibilă influență a HGF, o creștere cu 1 unitate fiind asociată cu o creștere a riscului cardiovascular cu 0.07%, dar dovezile sunt inconcludente la $p = 0.07$

Având în vedere cele descrise, considerăm că au fost atinse obiectivele de cercetare științifică enunțate.

Contribuțiile personale sunt reprezentate de:

- Adresarea unei patologii (steatoza hepatică / steatohepatita) ce reprezintă în prezent o epidemie în continuă expansiune la nivel mondial cu fiziopatologie, caracteristici, management și tratament încă incomplet definite și înțelese.
- Analiza factorilor demografici, fizici și biochimici ce pot influența apariția steatozei hepatice, progresia acesteia către inflamație și fibroză într-un lot de

pacienți supraselectat și cu o rată mai înaltă de apariție a acestei patologii comparativ cu populația generală.

- Propunerea și identificarea utilității unor noi biomarkeri ce ar putea schimba managementul și modalitatea de diagnostic în rândul pacienților cu această patologie, aspect foarte important în condițiile gold-standardului de diagnostic prezent pentru steatohepatita non-alcoolică (punctia biopsie hepatică)
- Identificarea de noi biomarkeri ce ar putea fi utili în prevenția precoce a complicațiilor, în special cele cardiovasculare care reprezintă și principala cauză de mortalitate în această patologie.
- Stabilirea prevalenței celor mai frecvente mutații genetice descrise în literatură pentru asocierea cu steatoza hepatică și sindromul metabolic în genele PNPLA3 și TM6SF2 și utilitatea asocierii acestor polimorfisme cu anumiți parametri biochimici pentru diagnostic.
- Propunerea unor modele statistice bazate pe biomarkeri și testare genetică pentru diagnosticul steatozei și fibrozei hepatice, dar și a sindromului metabolic.

Direcții viitoare de cercetare pot fi:

- Testarea biomarkerilor propuși în grupuri populaționale mai mari și mai variate ca patologii asociate care să permită validarea acestora pentru utilizarea în practica clinică
- Studii controlate histologic prin compararea rezultatelor biomarkerilor cu rezultatele puncției biopsie hepatice care să permită în timp schimbarea gold-standardului de diagnostic pentru steatohepatită.
- Introducerea testării genetice pentru polimorfismele cele mai frecvente, în special la pacienții aflați în grupele de risc (cei cu diabet zaharat tip II, obezitate, sindrom metabolic, transplant de organe solide) în scopul identificării celor cu risc de progresie rapidă și complicații și introducerea acestora într-un program de screening.
- Includerea biomarkerilor și/sau testelor genetice în scoruri de prognostic cu scopul identificării pacienților aflați la risc de progresie și complicații.

Bibliografie selectivă

- Baulande S, L. F. (2001). Adiponutrin, a transmembrane protein corresponding to a novel dietary- and obesity-linked mRNA specifically. *J Biol Chem*, 276:33336–33344.
- Brown GT, K. D. (2016). Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Metabolism*, 65, 1080-1086.
- Dongiovanni, P. . (2015). Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology*, 61, 506-514. doi:doi:10.1002/hep.27490
- Dooley S, t. D. (2011). TGF- β in progression of liver disease. . *Cell Tissue Res.*, 245-56.
- Drescher, H. e. (2017). β 7-Integrin and MAdCAM-1 play opposing roles during the development of non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Hepatology*, 66(6), 1251 - 1264.
- Ekstedt M, F. L. (2006). Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*(44), 865–873.
- Ekstedt M, H. H. (2014). Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. . *Hepatology* , 1547-1554.
- Ekstedt M, N. P. (2017). Natural History of NAFLD/NASH. *Curr Hepatol Rep*, 16(4), 391-397.
- Guyon, A. (2014). CXCL12 chemokine and its receptors as major players in the interactions between immune and nervous systems. *Front Cell Neurosci.*, 65.
- Imamura R, M. K. (2017). Hepatocyte growth factor in physiology and infectious diseases. *Cytokine*, 97-106. doi:https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.12.025.
- Karlsen, T. H. (2015). Genetics of liver disease: From pathophysiology to clinical practice. *J Hepatol*, S6 - S14.
- Kivela AJ, P. S. (2000). Expression of transmembrane carbonic anhydrase isoenzymes IX and XII in normal human pancreas and pancreatic tumours. . *Histochemistry and cell biology*, 197–204.
- Kozlitina J, S. E.-H. (2014). Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*, 352–356. doi:doi: 10.1038/ng.2901
- Luster AD, R. J. (1987). Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10). *J Exp Med.* , 1084-97.
- Mahdessian H, T. A.-C. (2014). TM6SF2 is a regulator of liver fat metabolism influencing triglyceride secretion and hepatic lipid droplet content. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 8913-8. doi:doi: 10.1073/pnas.1323785111
- Mohamad B, S. V. (2016). Characterization of hepatocellular carcinoma (HCC) in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients without cirrhosis. *Hepatol Int*, 632-639.

Nakamura, T. . (2011). Hepatocyte growth factor twenty years on: Much more than a growth factor. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 188-202. doi:doi:10.1111/j.1440-1746.2010.06549.x

Nasr P, I. S. (2017). Natural history of nonalcoholic fatty liver disease: A prospective follow-up study with serial biopsies. *Hepatol Commun.*, 2(2), 199–210. doi:doi:10.1002/hep4.1134

Ohmori Y, H. T. (1995). The interferon-stimulated response element and a kappa B site mediate synergistic induction of murine IP-10 gene transcription by IFN-gamma and TNF-alpha. *J Immunol.* , 5235-44.

Palmer CN, M. C. (2012). Paradoxical lower serum triglyceride levels and higher type 2 diabetes mellitus susceptibility in obese individuals with the PNPLA3 148M variant. *PLoS One.*, 7(6), e39362.

Petta S, V. L. (2013). PNPLA3 GG genotype and carotid atherosclerosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One.*, 8(9), e74089. doi:doi:10.1371/journal.pone.0074089

Speliotes EK1, M. J. (2010). Fatty liver is associated with dyslipidemia and dysglycemia independent of visceral fat: the Framingham Heart Study. *Hepatology.*, 1979-87. doi:doi: 10.1002/hep.23593.

Syn WK, A. K. (2012). NKT-associated hedgehog and osteopontin drive fibrogenesis in non-alcoholic fatty liver disease. *Gut.*, 61(9)), 1323-9.

Wang Y, Y. W. (2017). Predictive Value of Serum IFN- γ inducible Protein-10 and IFN- γ /IL-4 Ratio for Liver Fibrosis Progression in CHB Patients. *Sci Rep.*, 404-04. doi:doi:10.1038/srep40404

Yki-Järvinen. (2014). Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 2(11), 901-10. doi:doi: 10.1016/S2213-8587(14)70032-4

Younossi ZM. (2012). Nonalcoholic fatty liver disease in lean individuals in the United States. *Medicine*, 91, 319–327.

Lista cu lucrările științifice publicate

Capitole de carte

Carmen Ester, Liana Gheorghe, Raluca Popa, Silvia Cusai, Oana Stoica. Afectarea renală acută la pacientul cu boala hepatică cronică în stadiu terminal. În: Covic A, Apetrii M, Trifan A, Singeap AM. Conexiuni renale in boli hepatice. Editura “Gr. T. Popa” UMF Iași, 2017:145-164

Articole publicate în reviste de specialitate

Ester C, Gheorghe L, Becheanu G, Lupescu I, Popescu I, Gheorghe C. Early detection of advanced pancreatic cancer after DAA-induced virological cure in a liver transplant recipient with hepatitis C recurrence. *J Gastrointest Liver Dis.* 2018 Mar;27(1):104-105. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.271.daa. <http://www.jgld.ro/wp/archive/y2018/n1/a19/>

Ester C, Cerban R, Iacob S, Pietroreanu C, Constantin G, Paslaru L, Ichim S, Lita M, Vadan R, Grancea C, Ruta S, Gheorghe C, Popescu I, Gheorghe L. The Role of Beta-7 Integrin and Carbonic Anhydrase IX in Predicting the Occurrence of de Novo Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Liver Transplant Recipients. *Chirurgia (Bucur).* 2018 Jul-Aug;113(4):534-541. doi: 10.21614/chirurgia.113.4.534.<https://www.revistachirurgia.ro/cuprinsen.php?nr=4&an=2018&tt=Number%204/2018%20-%20Jul-Aug>

Carmen Ester, Razvan Cerban, Speranta Iacob, Corina Pietroreanu, Mihaela Lita, Olteanu Ovidiu-Andrei, Simona Ichim, Georgiana Constantin, Liliana Paslaru, Camelia Grancea, Simona Ruta, Liana Gheorghe. Metabolic Syndrome and Cardiovascular Risk in Liver Transplant Recipients - Can Non-invasive Testing Change the Landscape? *Surg. Gastroenterol. Oncol.* 2018;23(6):386-390 DOI: 10.21614/sgo-23-6-386
<https://www.sgo-iasgo.com/article/metabolic-syndromeand-cardiovascular-risk-in-liver-transplant-recipients-can-non-invasive-testing-change-the-landscape>

Iacob S, **Ester C**, Lita M, Gheorghe L. Real-life perception and practice patterns of NAFLD/NASH in Romania: Results of a survey completed by 100 board-certified gastroenterologists. *J Gastrointest Liver Dis* 2016; 25(2): 183-189. Doi: 10.15403/jgld.2014.1121.252.naf.

Iacob S, Cerban R, Pietroreanu C, **Ester C**, Iacob R, Gheorghe C, Popescu I, Gheorghe L. 100% sustained virological response and fibrosis improvement in real-life use of direct acting antivirals in genotype-1b recurrent hepatitis C following liver transplantation. *J Gastrointest Liver Dis.* 2018 Jun;27(2):139-144. doi: 10.15403

Iacob, S.; **Ester, C.**; Lita, M.; Ratziu, V.; Gheorghe, L. Real-life Perception and Practice Patterns of NAFLD/NASH in Romania: Results of a Survey Completed by 102 Board-certified Gastroenterologists *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases* 2016 25(2): 183-189

Răzvan Cerban, **Carmen Ester**, Speranța Iacob, Mihaela Ghioca, Liliana Paslaru, Radu Dumitru, Mugur Grasu, Georgiana Constantin, Irinel Popescu and Liliana Gheorghe. Evaluation of Alpha-fetoprotein and Prothrombin Induced by Vitamin K Absence for Hepatocellular Carcinoma Diagnosis in Patients Admitted to a Large Transplant Center. *Surg. Gastroenterol. Oncol.* 2018;23(6):391-398 DOI: 10.21614/sgo-23-6-391 <https://www.sgo-iasgo.com/article/evaluation-of-alpha-fetoprotein-and-prothrombin-induced-by-vitamin-k-absence-for-hepatocellular-carcinoma-diagnosis-in-patients-admitted-to-a-large-transplant-center>

Răzvan Cerban, **Carmen Ester**, Speranța Iacob, Mihaela Ghioca, Liliana Paslaru, Radu Dumitru, Mugur Grasu, Georgiana Constantin, Irinel Popescu and Liliana Gheorghe. Alpha-Fetoprotein, Alpha-Fetoprotein-L3, Protein Induced by Vitamin K Absence, Glypican 3 and Its Combinations for Diagnosis of Hepatocellular carcinoma. *Surgery, Gastroenterology and Oncology*, Vol. 24, Nr. 1, Feb 2019 Article DOI: 10.21614/sgo-24-1-37 <https://www.sgo-iasgo.com/article/alpha-fetoprotein,-alpha-fetoprotein-l3,-protein-induced-by-vitamin-k-absence,-glypican-3-and-its-combinations-for-diagnosis-of-hepatocellular-carcinoma>

Cerban R, **Ester C**, Iacob S, Grasu M, Pâslaru L, Dumitru R, Lupescu I, Constantin G, Croitoru A, Gheorghe L. Predictive Factors of Tumor Recurrence and Survival in Patients with Hepatocellular Carcinoma treated with Transarterial Chemoembolization. *J Gastrointest Liver Dis.* 2018 Dec;27(4):409-417. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.274.fcr. <http://www.jgld.ro/wp/archive/y2018/n4/a11/>

Cerban R, **Ester C**, Iacob S, Paslaru L, Dumitru R, Grasu M, et al. Evaluation of tumor response using alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in hepatocellular carcinoma patients who underwent transarterial chemoembolization. *Chirurgia (Bucur).* 2018;113(4):524-

Prezentări orale la manifestări științifice organizate de asociații profesionale naționale

Iulia Simionov, Razvan Cerban, **Carmen Ester** Management of cholestatic and autoimmune liver diseases in 5th Update on Hepatology Course, April 2018, Bucharest, Romania

Mihaela Lita, Speranța Iacob, **Carmen Ester**, Cristian Gheorghe, Liana Gheorghe
OP 58. Primary sclerosing cholangitis, clinical characteristics, low incidence of the association with inflammatory bowel disease and low complication rates Al XXXVI-lea Congres Național de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă, Cluj-Napoca 2016 J Gastrointest Liver Dis, June 2016, Vol 25, Suppl.2: 44

Carmen Ester, Speranta Iacob, Corina Pietroreanu, Razvan Cerban, Mihaela Lita, Doina Hrehoret, Vladislav Brasoveanu, Irinel Popescu, Liliana Pislaru, Georgiana Constantin, Liana Gheorghe OP 23. Steatosis and liver fibrosis assesment in liver transplant recipients – the use of noninvasive scoring systems in clinical practice The XXXVIIth National Congress of Gastroenterology, Hepatology and Digestive Endoscopy, Bucharest 2017 J Gastrointest Liver Dis, June 2017, Vol 26, Suppl.3: 15-16

Postere la manifestări științifice organizate de asociații profesionale nationale

Carmen Ester, Razvan Cerban', Razvan Iacob, Speranta Iacob, Andrei Sorop, Lorand Savu, Mihaela Lita, Georgiana Constantin, Liliana Paslaru , Camelia Grancea, Simona Ruta, Irinel Popescu, Liana Gheorghe. Metabolic syndrome in liver transplant recipients – The role of genetic testing and blood based biomarkers 6th Update on Hepatology Course, April 2019, Bucharest, Romania

Cerban R., Iacob S.' Croitoru A., Popescu I., Dumitru R., Grasu M., **Ester C.**, Pietroreanu C., Ghioca M., Gheorghe C. and Gheorghe L. Multidisciplinary team approach to hepatocellular

carcinoma management in a liver transplant center from Romania 6th Update on Hepatology Course, April 2019, Bucharest, Romania

Cerban Răzvan, **Ester Carmen**, Iacob Speranta, Paslaru Liliana, Dumitru Radu, Grasu Mugur, Constantin Georgiana, Gheorghe Cristian and Gheorghe Liliana Predictive factors for complete response and recurrence in hepatocellular carcinoma in patients treated with transarterial chemoembolization. . J Gastrointest liver dis 2018 May;27(Suppl 2):33.

S.Iacob, **C. Ester**, R. Cerban, C. Pietroreanu, R. Iacob, C. Gheorghe and L. Gheorghe Predictive factor for regression of liver cirrhosis one year after HCV eradication. J Gastrointest liver dis 2018 May;27(Suppl 2):38. Al XXXVIII-lea Congres Național de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă, Mai 2018, Craiova, Romania

Carmen Ester, Răzvan Cerban, Speranța Iacob, Corina Pietroreanu, Mihaela Liță, Simona Ichim, Georgiana Constantin, Liliana Pîslaru, Simona Ruță, Liana Gheorghe. Early detection of NAFLD and its complications in liver transplant recipients using blood based biomarkers. . J Gastrointest liver dis 2018 May;27(Suppl 2):52. Al XXXVIII-lea Congres Național de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă, Mai, 2018, Craiova, Romania

Cerban R., Iacob S., Pîslaru L., Dumitru R., Grasu M., **Ester C.**, Liță M., Pietrăreanu C., Constantin G., Gheorghe C. and Gheorghe L. PP101: Evaluation of tumor response using alpha-fetoprotein and des-γ-carboxyprothrombin in hepatocellular carcinoma patients who underwent transarterial chemoembolization J Gastrointest Liver Dis, June 2017, Vol 26, Suppl.3: 60-69

Mihaela Liță, Speranța Iacob, Răzvan Iacob, **Carmen Ester**, Corina Pietrăreanu, Răzvan Cerban, Cristian Gheorghe, Liana Gheorghe PD 25. Medium-term prognosis in patients with primary biliary cholangitis – experience of a tertiary hepatology center J Gastrointest Liver Dis, June 2017, Vol 26, Suppl.3: 128-129, Al-XXXVII-lea Congres de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă, 22-24 Iunie, București, Romania

Cerban R., Iacob S., Pîslaru L., Dumitru R., Grasu M., **Ester C.**, Liță M., Pietrăreanu C., Constantin G., Gheorghe C. and Gheorghe L. PD 39. Utility of measurement of alphafetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients admitted in a large transplant center in Romania J Gastrointest Liver Dis, June 2017, Vol 26, Suppl.3: 135 Al-XXXVII-lea Congres de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă, 22-24 Iunie, București, Romania

Carmen Ester, Speranța Iacob, Mihaela Liță, Răzvan Cerban, Liana Gheorghe V.201. Risk factors and impact of AKI in liver cirrhosis – the new ICA-AKI recommendations in clinical practice J Gastrointest Liver Dis, June 2016, Vol 25, Suppl.2: 202, Al XXXVI-lea Congres Național de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă, Cluj-Napoca 2016

Postere la manifestări științifice organizate de asociații profesionale internationale

L.S. Gheorghe, **C. Ester**, S. Iacob, R. Cerban, G. Constantin, L. Paslaru, C. Grancea, S. Ruță (Bucharest, RO) Novel biomarkers for predicting the occurrence of de novo non-alcoholic fatty liver disease in liver transplant recipients, FALK Symposia Sept. 2018 IBD and Liver: East Meets West, Kyoto, Japan

Cerban R., Croitoru A., Popescu I., Dumitru R., Grasu M., Iacob S., **Ester C.**, Liță M., Gheorghe C. and Gheorghe L. Multidisciplinary team approach to hepatocellular carcinoma management: Three year-study in a liver transplant center from Romania. Falk Symposium 212 IBD and Liver: East Meets West, Septembrie 2018, Kyoto, Japonia DOI: 10.13140/RG.2.2.18118.52802

Ester, Carmen et al. FRI-293-Recipient PNPLA3 and TM6SF2 genotypes and risk of NAFLD following liver transplantation Journal of Hepatology , 2019, Volume 70 , Issue 1 , e524, ILC 2018, Vienna, Austria

Carmen Ester, Răzvan Cerban, Speranța Iacob, Georgiana Constantin, Liliana Pîslaru, Camelia Grancea, Simona Ruță, Liana Gheorghe The role of CXCL10 for predicting the cardiovascular

risk and the occurrence of metabolic syndrome in liver transplant recipients, UEG Week, Viena, Oct 2018

Ester C , Gheorghe L, Iacob S., Cijevschi C, Trifan A, Stanciu C, Mihai C, Sporea I, Sirli R, Curescu M, Alexandrescu L, Sandulescu L, Goldis A, Arama V, Caruntu F, Hara L, Rogoveanu I, Brisc C, Seicean A, Simionov I, Vadan R, Pirvulescu I, Pietroreanu C, Iacob R, Diculescu M, Gheorghe C Safety, efficacy and risk of complications for cirrhotic HCV patients with thrombocytopenia and hypoalbuminemia treated with 3DAA + Ribavirin – A real life cohort UEG Week, Barcelona, Oct 2017

Cerban R.-C., **Ester C.-C.**, Iacob M.S., Grasu M., Dumitru R., Pietrăreanu C., Liță M.-C., Constantin G., Gheorghe L.S. Diagnostic Performance of Alpha- Fetoprotein, Alpha-fetoprotein-L3, Protein Induced by Vitamin K Absence, Glypican 3 and Its Combinations for Hepatocellular Carcinoma in Patients Admitted in a Large Transplant Center in Romania, UEG week, 20-24 Octombrie 2018, Viena, Austria

Cerban R.-C., **Ester C.-C.**, Iacob M.S., Grasu M., Dumitru R., Pietroreanu C., Lita M.-C., Constantin G., Gheorghe L.S Predictive Factors for Complete Response and Recurrence After Transarterial Chemoembolization in Hepatocellular Carcinoma Patients: a Five-year Experience, UEG week, 20-24 Octombrie 2018, Viena, Austria

