

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
MEDICINĂ GENERALĂ
GASTROENTEROLOGIE**

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. CARMEN FIERBINȚEANU – BRATICEVICI

Student doctorand:

CALAPOD OVIDIU PAUL

2023

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
MEDICINĂ GENERALĂ
GASTROENTEROLOGIE**

**DETERMINAREA FIBROZEI HEPATICE LA PACIENȚII CU DIABET
ZAHARAT TIP II – CORELAȚII CLINICO-BIOLOGICE
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. CARMEN FIERBINȚEANU – BRATICEVICI

Student doctorand:

CALAPOD OVIDIU PAUL

2023

Cuprins

Abrevieri	8
I. Partea generală	10
1. Introducere	10
2. Ficatul gras non-alcoolic și diabetul zaharat tip II.....	13
2.1 Definiție și epidemiologie	13
2.2 Fiziopatologie	17
2.3 Diagnostic și monitorizare	23
2.4 Tratament.....	29
3. Ficatul gras non-alcoolic și infecția SARS-COV2.....	32
II. Partea specială	37
1. Introducere	37
2. Ipoteza de lucru si obiective generale.....	41
3. Metodologia generală a cercetării	42
4. Impactul valorilor crescute ale scorului FIB-4 asupra prognosticului COVID-19 la pacienții cu diabet zaharat tip II.....	43
4.1 Introducere.....	43
4.2 Materiale și metode	47
4.3 Rezultate.....	51
4.4 Discuții.....	63
4.5 Concluzii.....	68
5. Crearea unui model clinic predictiv pentru diagnosticul fibrozei hepatice severe la pacienții cu diabet zaharat tip II	69
5.1 Introducere.....	69
5.2 Materiale și metode.....	73

5.3 Rezultate	78
5.4 Discuții	95
5.5 Concluzii	100
6. Concluzii și contribuții personale	101
6.1 Concluzii finale	101
6.2 Contribuții personale	104
8. Bibliografie	107
ANEXE	127

I. Partea generală

1. Introducere

Pentru prezenta lucrare de cercetare doctorală, am dorit să abordez un subiect de actualitate, cu implicații mari socio-economice, și anume ficatul gras non-alcoolic (FGNA) la pacienții cu diabet zaharat tip II (DZTII). În ultimul deceniu, sedentarismul și dieta bogată în grăsimi saturate și carbohidrați cu indice glicemic ridicat, au dus la schimbări dramatice în ceea ce privește statusul metabolic general al populației. Afecțiunile metabolice, precum obezitatea, DZTII și FGNA au avut o rată globală de creștere alarmantă atât în țările dezvoltate cât și în țările aflate în curs de dezvoltare. La acest moment, FGNA are o prevalență globală de 25.2%, cu cele mai mari rate în America de Sud (31%) și Orientul Mijlociu (32.5%), urmat de Asia (27%), Statele Unite ale Americii (24%) și Europa (23%) [1]. Mai mult decât atât, prevalența ridicată a FGNA este concomitentă cu creșterea progresivă a epidemiei de obezitate și DZTII, afecțiuni care coexistă la majoritatea pacienților cu disfuncții metabolice. FGNA și DZTII sunt două patologii înrudite, aflate la intersecția unor factori de risc identici, dar și a epidemiologiei și fiziopatologiei similare.

Asocierea FGNA cu morbiditatea și mortalitatea de cauză metabolică, cardiovasculară, renală, precum și cu cea hepatică, ridică provocări serioase pentru clinicienii de pretutindeni în ceea ce privește prevenția, diagnosticul și tratamentul acestei afecțiuni. Astfel, devine extrem de importantă stabilirea unei conduite de diagnostic în ceea ce privește detecția timpurie a fibrozei avansate, principalul factor de predicție din spectrul FGNA nu doar în prognosticul bolii hepatice, ci și în apariția manifestărilor sistemice, precum evenimentele cardiovasculare, accidentul vascular cerebral, complicațiile metabolice etc [2].

Importanța stadializării fibrozei hepatice la pacienții cu DZTII a luat amploare, când, la sfârșitul anului 2019 au fost descrise primele cazuri secundare unei infecții respiratorii cauzate de coronavirusul 2 asociat sindromului acut respirator sever (SARS-COV2) în regiunea Wuhan, China; această infecție virală, în scurt timp, a luat proporții pandemice [3, 4]. Din momentul respectiv întreaga comunitate științifică medicală și-a îndreptat eforturile spre identificarea factorilor de risc asociați cu progresia spre formă severă și deces a infecției SARS-COV2. Studii populaționale mari din întreaga lume au descris dereglările metabolice, în particular obezitatea

și DZTII, ca principali factori de risc pentru forma severă a COVID-19 [4-6]. În plus, s-a obiectivat că prezența FG-SM este asociată cu formele severe de COVID-19, pacienții având un clearance viral încetinit și o probabilitate mai mare de a dezvolta citoliza hepatică pe parcursul internării [7].

Argumentele prezentate mai sus au stat la baza celor două studii care compun actuala teză de doctorat și ale căror detalii le voi prezenta în capitolele ce urmează.

2. Ficatul gras non-alcoolic și diabetul zaharat tip II

2.1 Definiție și epidemiologie

Termenul de ficat gras non-alcoolic a fost pentru prima dată introdus de Ludwig et al în 1980 [8], la momentul actual reprezentând cea mai comună cauză de boală hepatică cronică la nivel mondial, cu o prevalență globală de 25.2% [9]. Definiția clasică a acestuia presupune prezența steatozei hepatice în peste 5% din hepatocite, în absența altor cauze de afectare hepatică, respectiv consumul de etanol, hepatitele virale sau medicamentoase, bolile hepatice ereditare etc [10].

Cu toate acestea, termenul de FGNA nu capturează importanța etiologiei metabolice și a insulino-rezistenței, determinanți principali în dezvoltarea steatozei hepatice, iar definiția acestuia nu include factorii de risc relevanți care contribuie în fiziopatologia sa. Prin urmare, un consens de experți internaționali a propus o nouă terminologie pentru acesta, aceea de ficat gras asociat-sindromului metabolic (FG-SM), nomenclatură care cuprinde întreg spectrul patologic al acestuia și unul dintre următoarele 3 criterii: supraponderabilitate/obezitate, prezența DZTII sau dovezi ale disfuncției metabolice

Prevalența în continuă creștere a FGNA este concomitentă cu creșterea progresivă a epidemiei de obezitate și DZTII, afecțiuni care coexistă la majoritatea pacienților cu disfuncții metabolice. FGNA și DZTII sunt două patologii înrudite, aflate la intersecția unor factori de risc identici, dar și a epidemiologiei și fiziopatologiei similare.

2.2 Fiziopatologie

2.2.1 Ficatul gras non-alcoolic - consecință a diabetului zaharat tip II

Diabetul zaharat tip II reprezintă unul dintre cei mai puternici factori predictivi ai progresiei FGNA către formele avansate de boală hepatică, precum SHNA sau ciroza [11]. În absența DZTII, aproximativ 15% dintre indivizii cu FGNA, vor dezvolta SHNA, cu risc mare de progresie spre forme avansate. Prezența DZTII crește acest risc de cel puțin 3 ori, Koehler et al descriind o rată a fibrozei avansate de 18% într-o populație de diabetici unde a folosit elastografia tranzitorie ca metoda de referință [12].

2.2.3 Diabetul zaharat tip II - consecință a ficatului gras non-alcoolic

Prevalența diabetului zaharat tip II la indivizii cu SS și SHNA este estimată a fi la aproximativ 23% și 44%, rate cu mult mai mari ca prevalența DZTII în populația generală, de 8.5% [13].

Complexitatea interacțiunilor dintre FGNA, cantitatea de grăsime viscerală și rezistența la insulină, face dificilă aprecierea cu exactitate a mecanismelor care cresc riscul apariției DZTII la pacienții cu FGNA. Cel mai probabil, factorul declanșator al cascadei fiziopatologice constă în creșterea cantității țesutului adipos perivisceral, care inițiază factori multipli, precum eliberarea acizilor grași liberi și a adipokinelor proinflamatorii, care duc la dezvoltarea rezistenței la insulină, pilonul principal implicat patologia acestei asocieri [14].

2.3 Diagnostic și monitorizare

2.3.1 Metode de evaluare invazive

Biopsia hepatică este considerată gold-standardul de diagnostic și de evaluare histologică a FGNA. Cu toate acestea, din cauza invazivității sale, biopsia hepatică nu este potrivită pentru a fi utilizată în scopuri de screening și nu poate fi implementată timpuriu în evoluția bolii [15].

2.3.2 Metode de evaluare non-invazive

Modalitățile non-invazive de evaluare a fibrozei hepatice sunt împărțite în funcție de abordarea acestora: metode ce se bazează pe o abordare biologică, respectiv cuantificarea biomarkerilor serici, și metode ce se bazează pe o abordare fizică, respectiv pe măsurarea rigidității hepatice [16].

Metode ce se bazează pe cuantificarea biomarkerilor serici

Scorul NFS (NAFLD Fibrosis Score) a demonstrat o bună utilitate diagnostică ca marker prognostic al fibrozei hepatice, cu precădere al fibrozei avansate, care a fost exclusă cu o valoare predictiv negativă de 93% la un cut-off scăzut și o valoare predictiv pozitivă înaltă, de 90%. Scorul FIB-4 (Fibrosis-4), format doar din markeri biologici determinați de rutină, precum AST, ALT și trombocite, a fost pentru prima dată creat pentru evaluarea fibrozei hepatice la pacienții

cu hepatită cronică cu virus C (VHC). În mod asemănător, scorul APRI ((AST)-to-platelet ratio index)) a fost dezvoltat inițial pentru predicția fibrozei semnificative (F2) în rândul pacienților cu hepatită cronică VHC [17].

Metode ce bazează pe cuantificarea rigidității hepatice

Aceste metode se împart în două tipuri principale, respectiv elastografia strain (ES) sau elastografia în timp real și elastografia shear wave (ESW). ES reprezintă o metodă calitativă de evaluare a rigidității țesutului hepatic obținută prin compresia manuală a acestuia, iar ESW reprezintă o tehnică care evaluează cantitativ rigiditatea țesutului hepatic. Printre tehnicile care folosesc ESW, se numără elastografia tranzitorie (ET), singura metodă non-imagistică care se bazează pe existența unui impuls mecanic extern.

Spre deosebire de ET, elastografia cu unde acoustice (ARFI) de tip point Shear Wave (pSWE) și elastografia shear wave 2D (ESW- 2D) sunt încorporate în sistemele ultrasonografice [18].

2.4 Tratament

Indiferent de prezența sau absența DZTII, la momentul actual, nu există un tratament farmacologic standardizat pentru FGNA, aprobat de comisiile internaționale. Tratamentul igienodietetic, cu accent pe modificarea stilului de viață, reprezintă punctul-cheie în managementul acestei afecțiuni. Activitatea fizică are rezultate foarte bune inclusiv în regresia fibrozei hepatice și a SHNA, fiind recomandate o medie de 150-200 min/săptămână de activitate aerobă de intensitate medie, organizate în 3-5 ședințe [19].

Cu toate acestea, există câțiva agenți farmaceutici utilizați în tratamentul DZTII care pot exercita efecte benefice în FGNA, prin țintirea anumitor mecanisme fiziopatologice comune, precum rezistența la insulină.

3. Ficatul gras non-alcoolic și infecția SARS-COV2

Boala cauzată de coronavirus (COVID-19) a fost inițial raportată în regiunea Wuhan, China, în decembrie 2019, și reprezintă o afecțiune cauzată de un agent viral nou identificat, coronavirusul 2 asociat sindromului acut respirator sever (SARS-COV2). Având în vedere

contagiozitatea crescută și riscul de transmitere rapidă la nivel global, Organizația Mondială a Sănătății a declarat la 11 martie 2020 că infecția SARS-COV2 a luat proporții pandemice [3].

Astfel, comunitatea științifică a pornit într-un demers la nivel global de a identifica o serie de factori de risc pentru dezvoltarea unei forme severe a infecției SARS-COV2, printre cei mai importanți fiind sexul masculin, prezența comorbidităților metabolice, precum DZTII și obezitatea, sau bolile hepatice cronice.

Afectarea hepatică este frecventă în rândul pacienților cu COVID-19, ea fiind descrisă în 16-53% din cazuri, cu o prevalență care crește în prezența sindromului metabolic, la aproximativ 85% [20].

În ceea ce privește factorii de risc ai injuriei hepatice, puține studii au evaluat acest lucru până acum. Un studiu retrospectiv care a evaluat afectarea hepatică a pacienților cu COVID-19, a descris cea mai mare incidență a acesteia în rândul indivizilor cu FGNA și IMC crescut, constatând, de asemenea, și o asociere puternică între FGNA și formele severe ale infecției SARS-COV2 [21]. Astfel, FGNA, consecința hepatică a sindromului metabolic, a fost inclus printre factorii de risc pentru un prognostic nefavorabil [22].

Prognosticul asocierii FGNA cu DZTII este dat de severitatea fibrozei hepatice care impactează nu doar evoluția infecției SARS-COV2, ci și rata de răspuns la vaccin [23].

Astfel, evaluarea fibrozei hepatice în contextul pandemiei COVID-19 se bazează exclusiv pe tehnici imagistice sau markeri non-invazivi, iar evaluarea acesteia încă din stadiile timpurii ale infecției poate aduce informații noi despre patogeniza acestei boli și poate fi utilă pentru stratificarea riscului pacienților [24]. Scorul FIB-4, un sistem de scorificare simplu format din AST, ALT, vârsta și numărul trombocitelor, reprezintă cea mai studiată metodă non-invazivă de evaluare a fibrozei hepatice în contextul infecției SARS-COV2 [22, 25]. Cu toate acestea, nu au existat studii până la momentul actual care să studieze dinamica temporală a scorului, fiind dificil de înțeles dacă creșterea valorilor FIB-4 sunt cauzate de fibroza hepatică subiacentă sau de efectul citopatic direct la virusului.

II. Partea specială

1. Introducere

Boala ficatului gras non-alcoolic (FGNA) cuprinde un spectru larg de entități clinico-histologice care se manifestă prin afectarea progresivă a ficatului.

La momentul actual, FGNA are o prevalență globală de 25.2%, cu cele mai mari rate în America de Sud (31%) și Orientul Mijlociu (32.5%), urmate de Asia (27%), Statele Unite ale Americii (24%) și Europa (23%) [1]. În ultimele două decenii, prevalența ridicată a FGNA a fost concomitentă cu creșterea progresivă a epidemiei de obezitate și DZTII, afecțiuni care coexistă la majoritatea pacienților cu disfuncții metabolice.

Luând în considerare dovezile tot mai puternice care evidențiază DZTII ca fiind cea mai frecventă cauză de boală hepatică cronică [26, 27], evaluarea prognostică și managementul clinic al acestor pacienți trebuie să evidențieze cu precizie statusul fibrozei, în particular fibroza severă (F3). Acest subset de pacienți poartă cel mai mare risc de progresie spre boală hepatică avansată decompensată, hepatocarcinom asociat FGNA sau chiar deces dacă transplantul hepatic nu este posibil.

FGNA și-a dovedit suplimentar impactul asupra sănătății globale și prin efectul negativ asupra evoluției COVID-19. Studii populaționale mari din întreaga lume au descris dereglările metabolice, în particular obezitatea și DZTII, ca principali factori de risc pentru forma severă a COVID-19 [4]. Acest ansamblu de disfuncții metabolice, în special DZTII, reprezintă un factor de risc pentru FG-SM, mai ales că în mod frecvent, aceste comorbidități coexistă, prezența FGNA crescând incidența DZTII, iar DZTII accelerând progresia FGNA spre forme avansate de boală hepatică [28].

Dovezile actuale evidențiază că prezența FG-SM este asociată cu formele severe de COVID-19, acești pacienți având un clearance viral încetinit și o probabilitate mai mare de a dezvolta citoliză hepatică pe parcursul internării [7].

2. Ipoteza de lucru si obiective generale

Argumentele prezentate mai sus au stat la baza celor 2 studii care compun actuala teză de doctorat și ale căror detalii le voi prezenta în capitolele ce urmează.

Având în vedere rata globală de prevalență a FGNA și a DZTII, aproximativ un sfert din populația globală poartă un risc considerabil de a dezvolta o formă severă a COVID-19. În tot acest context a luat naștere studiul **“Impactul valorilor crescute ale scorului FIB-4 asupra prognosticului COVID-19 la pacienții cu diabet zaharat tip II”**.

Scopul studiului a fost de a descrie afectarea hepatică a unei populații de pacienți cu DZTII în contextul infecției SARS-COV2 și de a evalua asocierea valorilor crescute ale scorului FIB-4, ca marker al fibrozei hepatice, cu prognosticul acestor pacienți.

Obiectivele studiului au fost reprezentate de:

- Descrierea parametrilor clinici și paraclinici ai unui lot de pacienți care prezintă DZTII în contextul infecției SARS-COV2;
- Descrierea afectării hepatice a pacienților cu DZTII în contextul infecției SARS-COV2;
- Cuantificarea steatozei și fibrozei hepatice în cadrul lotului de pacienți diabetici și COVID-19;
- Identificarea factorilor de risc asociați cu un prognostic nefavorabil al COVID-19.

Al doilea studiu din cadrul tezei de doctorat poartă denumirea de **“Crearea unui model clinic predictiv pentru diagnosticul fibrozei hepatice severe la pacienții cu diabet zaharat tip II”** și a luat naștere în contextul eforturilor de a găsi o modalitate non-invazivă de evaluare a fibrozei hepatice la pacienții cu DZTII care să reducă nevoia utilizării biopsiei hepatice; în particular, m-am concentrat pe identificarea fibrozei severe ($F > 3$).

Scopul studiului a constat în analiza performanței mai multor metode non invazive de evaluare a fibrozei hepatice într-o populație de pacienți diagnosticați cu DZTII și, ulterior, pe baza rezultatelor, în stabilirea unui model clinic predictiv pentru scorificarea fibrozei hepatice severe.

Obiectivele studiului au fost reprezentate de:

- Descrierea parametrilor clinici și paraclinici ai lotului studiat;

- Evaluarea fibrozei hepatice folosind mai multe metode non-invazive și descrierea lotului din punct de vedere al prezenței fibrozei severe;
- Evaluarea performanței mai multor parametrii în diagnosticul fibrozei severe (F>3);
- Creerea unui model clinic predictiv pentru diagnosticul fibrozei severe (F>3).

3. Metodologia generală a cercetării

Ambele studii efectuate au un design de tip analitic, prospectiv, în care au fost incluși pacienți evaluați în cadrul Departamentului de Gastroenterologie al Spitalului Universitar de Urgență București. Studiile au fost aprobate de Comitetul Local de Etică al Spitalului Universitar de Urgență București (no. 9195/17 February 2021).

4. Impactul valorilor crescute ale scorului FIB-4 asupra prognosticului COVID-19 la pacienții cu diabet zaharat tip II

4.1 Introducere

Boala cauzată de coronavirus 19 (COVID-19) reprezintă o afecțiune infecțioasă secundară unui agent viral nou identificat al familiei Coroviridae, coronavirusul 2 asociat sindromului acut respirator sever (SARS-COV2), care determină afectare predominant pulmonară și care poate progresa spre sindromul de detresă respiratorie acută (ARDS) și exitus.

Majoritatea pacienților cu sindrom metabolic și COVID-19 dezvoltă în evoluția bolii afectare hepatică, mai frecvent în cazul formelor severe ale infecției SARS-COV2 [20]. În plus, un studiu retrospectiv care a evaluat profilele pacienților cu afectare hepatică, a descris cea mai mare incidență a acesteia în rândul indivizilor cu FGNA și IMC crescut, constatând, de asemenea, și o asociere puternică între FGNA și formele severe ale infecției SARS-COV2 [21]. Astfel, FGNA a fost inclus printre factorii de risc pentru un prognostic nefavorabil COVID-19 [22].

Prognosticul asocierii FGNA cu DZTII este dat de severitatea fibrozei hepatice care impactează evoluția infecției SARS-COV2.

La momentul actual, informațiile despre impactul fibrozei hepatice în cazul pacienților care prezintă DZTII asupra prognosticului COVID-19 sunt încă insuficiente. Așadar, scopul studiului de față este de a descrie afectarea hepatică a unei populații de pacienți diabetici în contextul infecției SARS-COV2 și de a evalua asocierea valorilor crescute ale scorului FIB-4, ca marker al fibrozei hepatice, cu prognosticul acestor pacienți.

4.2 Materiale și metode

4.2.1 Design-ul studiului

Am efectuat un studiu prospectiv, de tip analitic, conform principiilor etice specifice cercetărilor medicale pe subiecți umani recomandate în Declarația de la Helsinki, în care au fost incluși 138 de pacienți evaluați în cadrul Departamentului de Gastroenterologie al Spitalului Universitar de Urgență București.

4.2.2 Criterii de includere

Criteriile de includere au fost reprezentate de:

- Vârstă >18 ani;
- Diabet zaharat tip II cunoscut sau diagnosticat de peste 6 luni, conform criteriilor Asociației Americane de Diabet [29];
- Diagnostic pozitiv de infecție SARS-COV2 prin detecția acesteia prin tamponament nazofaringian folosind reacția în lanț a polimerazei inverse-transcriptază (RT-PCR).

4.2.3 Criterii de excludere

Criteriile de excludere au fost reprezentate de:

- Prezența altor etiologii de afecțiuni hepatice;
- Prezența miopatiilor;
- Prezența trombocitopatiilor;

- Prezența consumului de etanol, definit ca o cantitate >20g/zi pentru sexul masculin și >30g/zi pentru sexul feminin și evaluat conform chestionarului AUDIT-C recomandat de Organizația Mondială a Sănătății [30]

4.2.4 Protocolul de evaluare al pacienților

În perioada desfășurării studiului, toți pacienții evaluați în cadrul Departamentului de Gastroenterologie al Spitalului Universitar București au fost incluși conform criteriilor de mai sus. Subiecții incluși au urmat un protocol specific, care a inclus anamneza, examenul clinic obiectiv și examenele paraclinice.

4.2.4.1 Anamneză și examen clinic

La momentul prezentării, s-au colectat date anamnestic și demografice, ce au inclus, vârstă, sex, prezența comorbidităților, momentul debutului infecției SARS-COV2 și durata acesteia, istoricul simptomelor pre-admisie și durata lor, istoricul medicației folosite, precum și evaluarea greutateii și înălțimii pentru fiecare subiect. De asemenea, a fost evaluat consumul de etanol pentru fiecare pacient în parte conform chestionarului AUDIT-C.

Examenul clinic obiectiv a fost efectuat pe aparate și sisteme.

4.2.4.2 Examenul paraclinic

Au fost recoltate probe biologice pentru toți pacienții, care au constat în: hemogramă, coagulogramă, teste funcționale hepatice, teste ale funcției renale, profilul lipidic, sideremie, teste inflamatorii nespecifice, glucoza serică, hemoglobina glicozilată și profilul echilibrului acido-bazic (EAB).

Pentru diagnosticul infecției SARS-COV2, s-a efectuat tamponament nazo-faringian, iar detecția virală a fost realizată folosind reacția RT-PCR. Evaluarea afectării pulmonare a fost făcută prin efectuarea radiografiei standard și prin efectuarea tomografiei computerizate toracice (CT).

4.2.4.3 Evaluarea steatozei și fibrozei hepatice

Diagnosticul pozitiv al FGNA a fost făcut prin excluderea anamnetică și cu ajutorul probelor paraclinice a altor afecțiuni care pot determina afectare hepatică și prin verificarea

istoricului pacienților pentru dovezi în acest sens, respectiv a dovezilor imagistice și/sau modificări ale testelor funcționale hepatice în ultimele 12 luni. De asemenea, pacienții care nu au avut istoric de steatoză hepatică au fost evaluați prin examinarea CT toracic fără substanță de contrast, al cărui protocol a inclus achiziția de secțiuni hepatice de la nivelul venei porte drepte și a polului superior splenic.

Toți pacienții care au prezentat FGNA au fost evaluați pentru prezența fibrozei hepatice cu scorul FIB-4 [31]. Astfel, în funcție de valoarea scorului, pacienții au fost împărțiți în 3 grupuri folosind valorile cut-off standardizate: pacienți cu risc scăzut de fibroză hepatică (FIB-4 < 1.30), pacienți cu risc intermediar de fibroză hepatică (FIB-4: 1.30–3.25) și pacienții cu risc ridicat de fibroză hepatică (FIB-4 > 3.25).

4.2.4.2 Analiza statistică

Toate datele au fost colectate și prelucrate în Microsoft Excel, versiunea 2019. Analiza statistică a fost efectuată folosind Epi Info, versiunea 7.4.2.2020.

4.3 Rezultate

4.3.1 Date generale ale populației de studiu

În cadrul studiului de față care a inclus 138 de pacienți diabetici diagnosticați cu COVID-19, vârsta medie a fost de 66.32 ± 13.72 , lotul cuprinzând un procent mai mare de bărbați, de 57.9% ($n = 79$), în timp ce femeile au constituit 42.1% ($n = 59$), vârsta medie fiind 66.32 ± 13.72 . IMC mediu a fost 29.91 ± 5.28 .

FGNA a fost diagnosticat în 91.3% ($n = 126$) din cazuri, în timp ce 8.7% ($n = 12$) dintre pacienți nu au avut dovezi de afectare hepatică. Conform valorilor indexului FIB-4, pacienții au fost clasificați în trei grupe: 62.7% ($n = 79$) din pacienți au avut risc scăzut de fibroză hepatică (FIB-4 < 1.30), 15.8% ($n = 20$) din pacienți au avut risc intermediar de fibroză hepatică (FIB-4: 1.30–3.25) și 21.5% (27) din pacienți au avut risc ridicat de fibroză hepatică. (FIB-4 > 3.25) (figura 4.5).

Profilul testelor funcționale hepatice a evidențiat că 73.9% ($n = 102$) dintre pacienți au avut cel puțin un parametru modificat, cel mai frecvent fiind LDH (81.5%). Patternul afectării

a fost cel mai frecvent hepatocellular (64.6%), în timp ce enzimele de colestază au crescut în stadiile avansate ale bolii

4.3.2 Comparația pacienților în funcție de statusul fibrozei hepatice

Grupul pacienților cu risc ridicat de fibroză hepatică (FIB-4 > 3.25) au avut o valoare a IMC mai mare (31.3 ± 5.6 vs. 27.9 ± 5.2 vs. 27.2 ± 4.5 , $p < 0.001$) și valori mai mari ale feritinei (690.57 ± 197.85 vs. 625.87 ± 201.24 vs. 623.45 ± 198.56 , $p = 0.013$), ale glucozei serice (198.25 ± 87.68 vs. 164.54 ± 64.23 vs. 156.78 ± 65.24 , $p < 0.001$), hemoglobinei glicozilate (7.8 (6.7 - 9.1) vs 7.2 (6.6-8.4) 0.037 vs. 7.1 (6.4 - 8.3), $p = 0.037$).

Teste funcționale hepatice au fost semnificativ statistic crescute în grupul pacienților cu risc crescut de fibroză hepatică. Astfel, s-au constatat valori mari ale AST (57 (37 - 88) vs. 49 (36 - 75) vs. 44 (29-85), $p < 0.001$), ALT (47 (29 - 76) vs. 37 (21-62) vs. 35 (26-58), $p < 0.001$), GGT (94 (45 - 123) vs. 72 (45 - 99) vs 69 (41- 102), $p < 0.001$), FAL (79 (49 - 98) vs. 62 (42 - 91) vs. 53 (31 - 81), $p < 0.001$) și LDH (391 (315-434) vs. 345 (215 - 357) vs. 317 (198 - 349), $p = 0.002$).

În ceea ce privește parametrii principali prin care a fost evaluat prognosticul COVID-19, grupul pacienților cu risc ridicat de fibroză hepatică (FIB-4 > 3.25) au avut o perioadă de spitalizare mai mare (17 zile vs. 13 zile vs. 11 zile, $p < 0.014$), o rată mai mare de admisie în STI (23% vs. 17.4% vs. 8.7%, $p = 0.021$) și un număr mai mare de decese raportate (10.3% vs. 6.3% vs. 3.1%, $p < 0.001$). De asemenea, a fost înregistrat un număr mai mare de forme severe în rândul acestor pacienți (38.8% vs. 21.4% vs. 9.5%, $p = 0.019$).

4.3.3 Factori de risc asociați cu prognosticul nefavorabil al infecției SARS-COV2

Regresia logistică multivariată a identificat factorii de risc asociați cu dezvoltarea unei forme severe de COVID-19. Factorii predictorii independenți au fost obezitatea (OR - 3.24; 95% CI, 1.46–5.32, $p = 0.003$), valorile mari ale feritinei (OR - 1.9; 95% CI 1.78-8.29, $p = 0.031$) și valorile crescute ale scorului FIB-4 (OR-4.89; 95% CI, 1.34-12.3, $p = 0.02$).

4.4 Discuții

O descoperire importantă evidențiată în studiul de față a fost asocierea unor valori mari ale scorului FIB-4 cu evoluția nefavorabilă a COVID-19 (durata de spitalizare, necesarul de

ventilație invazivă, rata de apariție a formelor severe, precum și numărul total decese au fost semnificativ statistic mai mari). Rezultatele sunt similare cu ale lui *Campos-Murguia et al* care a efectuat un studiu retrospectiv pe o cohortă de pacienți spitalizați pentru infecția SARS-COV2, cu scopul de a evalua efectul steatozei și fibrozei hepatice din spectrul clinic al FGNA asupra prognosticului infecției [32].

În acest context, putem considera valabila ipoteza că fibroza hepatică severă accentuează răspunul imun disfuncțional ce caracterizează infecția SARS-COV2.

Analizând efectul independent al fiecărui parametru asupra prognosticului infecției SARS-COV2, regresia logistică multivariată a evidențiat că prezența obezității (OR - 3.24, 95% CI, 1.46 - 5.32, p - 0.003), dispneea (OR - 2.19, 95% CI, 1.56–6.29, p - 0.042), valorile crescute ale feritinei (OR - 1.9, 95% CI, 1.78 – 8.29, p - 0.031) și ale scorului FIB-4 (OR - 4.89, 1.34 – 12.3, p = 0.002), cresc șansele de a dezvolta o formă severă de COVID-19.

Studiul de față are anumite limite. Cohorta de pacienți a inclus o populație caucaziană de diabetici la care s-a descris o rată mare a prevalenței obezității și a fibrozei hepatice. O altă limită privește utilizarea scorului FIB-4. Cu toate acestea, având în vedere riscurile epidemiologice ale infecției SARS-COV la care se supun cadrele medicale, folosirea scorului FIB-4 a fost cea mai sigură variantă pentru a minimiza expunerea, iar folosirea altei metode de diagnostic ce nu presupune markeri biologici este dificilă deocamdată. În ciuda acestor limite, până la ora actuală, studiul nostru este unul dintre puținele raportări științifice care evaluează impactul valorilor mari ale scorului FIB-4 într-o populație de diabetici asupra prognosticului infecției SARS-COV2.

4.5 Concluzii

În grupul pacienților cu valori mari ale indexului FIB-4, specific fibrozei avansate ($F > 3$), durata de spitalizare, necesarul de ventilație invazivă, rata de apariție a formelor severe, precum și numărul total decese au fost semnificativ statistic mai mari.

5. Crearea unui model clinic predictiv pentru diagnosticul fibrozei hepatice severe la pacienții cu diabet zaharat tip II

5.1 Introducere

Ficatul gras non-alcoolic (FGNA) cuprinde un spectru larg de entități histologice: steatoza hepatică simplă (SS), steatohepatita non-alcoolică (SHNA), fibroza și ciroza hepatică. Fiind caracterizat de o încărcare grăsoasă de >5% și de excluderea altor cauze de afecțiuni hepatice, FGNA coexistă cu afecțiuni metabolice, precum obezitatea sau diabetul zaharat tip II (DZTII).

Stadiul fibrozei hepatice reprezintă cel mai important predictor al bolii hepatice avansate și al ratei de mortalitate asociate complicațiilor hepatice, aspect observat încă din stadiile timpurii ale acesteia.

Cu toate că diagnosticul și stadializarea corectă a fibrozei hepatice impun biopsia hepatică, aceasta a devenit din ce în ce mai puțin utilizată și acceptată de către pacienți din cauza potențialelor complicații.

În ultimul deceniu au fost create mai multe metode non-invazive pentru determinarea fibrozei hepatice. Astfel, au apărut scoruri care au fost validate pe cohorte mari de pacienți, cele mai folosite în practica clinică fiind AST-to-platelet ratio index (APRI), Fibrosis 4 (FIB-4) sau NAFLD fibrosis score (NFS).

De asemenea, în ultimii ani au fost dezvoltate metodele elastografice de evaluare a fibrozei hepatice, asociate sau nu ultrasonografiei, principalul avantaj fiind cel al rapidității, al costului redus și al caracterului non-invaziv.

Studiul prezent și-a propus să evalueze performanța diagnostică a mai multor metode non-invazive de evaluare a fibrozei hepatice într-o populație de diabetici, folosind ca metodă de referință concordanța diagnostică dintre scorul NFS și valoarea rigidității hepatice măsurată printr-o metodă ARFI. În particular, ne-am concentrat pe diagnosticul fibrozei severe, aceasta reprezentând principalul determinant pentru progresia bolii hepatice.

5.2 Materiale și metode

5.2.1 Design-ul studiului

Am efectuat un studiu prospectiv, de tip analitic, conform principiilor etice specifice cercetărilor medicale pe subiecți umani recomandate în Declarația de la Helsinki, în care au fost incluși 175 de pacienți evaluați în cadrul Departamentului de Gastroenterologie al Spitalului Universitar de Urgență București. Dintre aceștia, 24 de pacienți au fost excluși din cauza măsurătorilor eronate a pSWE, iar 17 pacienți au fost excluși din cauza neconcordanței dintre valorile pSWE și ale scorului NFS. Studiul a fost aprobat de Comitetul local de Etică al Spitalului Universitar de Urgență București (no. 9195/17 February 2021), iar toți pacienții incluși au semnat consimțământul informat.

5.2.2 Criterii de includere

Criteriile de includere au fost reprezentate de:

- Vârstă >18 ani;
- Diabet zaharat tip II cunoscut sau diagnosticat de peste 6 luni, conform criteriilor Asociației Americane de Diabet [29];

5.2.3 Criterii de excludere

Criteriile de excludere au fost reprezentate de:

- Prezența altor etiologii de afecțiuni hepatice și anume:
- Prezența miopatiilor;
- Prezența trombocitopatiilor;
- Prezența consumului de etanol, definit ca o cantitate >20g/zi pentru sexul masculin și >30g/zi pentru sexul feminin și evaluat conform chestionarului AUDIT-C recomandat de Organizația Mondială a Sănătății [30]

5.2.4 Protocolul de evaluare al pacienților

5.2.4.1 Anamneză și examen clinic

La momentul prezentării, s-au colectat date anamnestice și demografice, ce au inclus vârsta, sexul, prezența comorbidităților, istoricul medicației folosite, precum și evaluarea greutateii și înălțimii pentru fiecare subiect.

Examenul clinic obiectiv a fost efectuat pe aparate și sisteme.

5.2.4.2 Examene paraclinice

Au fost recoltate probe biologice a jeun pentru toți pacienții, care au constat în: hemogramă, coagulogramă, teste funcționale hepatice, teste ale funcției renale, profilul lipidic, sideremie, teste inflamatorii nespecifice, glucoza serică, hemoglobina glicozilată și nivelul insulinei serice. Evaluarea insulino-rezistenței a fost efectuată conform indicelui HOMA-IR [33].

5.2.4.3 Evaluarea steatozei și fibrozei hepatice

Evaluarea imagistică a steatozei hepatice și fibrozei hepatice s-a realizat cu ecograful Siemens Acuson S2000, versiunea VB20, Model no. 10041461 (Siemens Healthineers, 91052 Erlangen, Germany), cu transductorul 4C1 (4 MHz).

Modul B a fost utilizat pentru aprecierea steatozei hepatice.

Determinarea fibrozei hepatice s-a realizat cu ajutorul software-ului “Virtual Touch Tissue Quantification mode” (Siemens Medical Solutions, Mountain View, CA, USA) încorporat în aparatul de ultrasonografie, în concordanță cu cele mai recente recomandări pentru elastografia hepatică ale Societății Europene de Radiologie și Imagistică [34].

Pentru determinarea fibrozei hepatice au fost folosite și scoruri non-invasive bazate pe markeri biochimici. În acord cu recomandările actuale [35], au fost folosite scorurile NFS, FIB-4 și APRI pentru fiecare pacient.

Pentru definiția fibrozei hepatice severe, am folosit o metodă combinată ce a constat în rata de concordanță dintre scorul NFS (>0.65) și valoarea pSWE (>1.7 m/s), sau procentul de pacienți ce au rezultate conform protocolului la ambele teste (NFS >0.65 + pSWE >1.7 m/s). Astfel, s-au format două grupuri de pacienți: grupul pacienților cu fibroză F1/F2 definit de un

scor NFS <0.65 și o valoare a pSWE <1.7 m/s și grupul pacienților cu fibroza F3/F4, definit de un scor NFS >0.65 și o valoare a pSWE >1.7 m/s.

5.2.4.4 Analiza statistică

Datele au fost stocate și prelucrate în Microsoft Excel, versiunea 2019. Analiza statistică a fost efectuată în Epi Info versiunea 7.2.4.2020 și IBM-SPSS software versiunea 20.0.0.

5.3 Rezultate

5.3.1 Date generale ale populației de studiu

Rata de concordanță dintre scorul NFS și valoarea pSWE a fost de 88.7%, un lot total de 134 de pacienți fiind înrolat pentru evaluarea finală. Vârsta medie a fost de 49.39 ± 8.19 , lotul cuprinzând un procent mai mare de bărbați, de 56.25% (n - 75), în timp ce femeile au constituit 43.75% (n - 59).

Prevalența steatozei hepatice a fost de 85.8% (n - 115). Dintre aceștia, 37.3% (n - 50) au avut steatoză hepatică grad I, 44% (n - 59) au avut steatoză hepatică grad II și 17.9% (n - 25) au avut steatoză hepatică grad III.

Prevalența fibrozei severe (F3/F4) bazată pe valoarea scorului NFS și a pSWE în cadrul lotului studiat a fost de 18.7% (n - 25), iar 81.3% (n - 109) dintre pacienți au fost încadrați ca fibroză non-severă (F1/F2).

Toți pacienții înrolați au fost supuși testelor non-invazive pentru evaluarea fibrozei hepatice. Valoarea medie a pSWE a fost de 1.3 ± 0.45 (m/s), a scorului NFS - 0.29 (-1.5-2.4), FIB-4 - 2.74 (0.66-9.41), APRI - 1.02 ± 0.43 și a scorului Composite - 1.6 (0-4).

5.3.2 Compararea pacienților în funcție de statusul fibrozei hepatice

Pacienții din grupul F3/F4 au prezentat vârste avansate (55.41 ± 6.85 vs 48.66 ± 8.19 , $p < 0.001$), o circumferință a taliei (94.66 ± 12.64 vs 91.96 ± 9.51 , $p = 0.053$), precum și un IMC mai mare (30.22 ± 2.77 vs 28.11 ± 2.45 , $p = 0.02$). De asemenea, aceștia au prezentat o frecvență mai mare a SM (79.7% vs 68.30%, $p < 0.001$).

În ceea ce privește rezultatele probelor de laborator, pacienții cu fibroză severă au avut niveluri mai mari ale trigliceridelor serice (202.58 ± 54.92 vs 194.49 ± 60.7 , $p = 0.032$), ale AST-

ului (91.94 ± 16.3 vs 82.15 ± 18.14 , $p = 0.021$), ALT -ului (92.14 ± 23.13 vs 85.09 ± 31.9 , $p = 0.047$) și GGT-ului (140.02 ± 57.58 vs. 99.36 ± 48.76 , $p < 0.001$).

În ceea ce privește rezultatele testelor noninvazive de evaluare a fibrozei hepatice, pacienții cu fibroză severă au avut valori semnificativ statistic mai mari ale ale indicelui NFS ($1.48 (0.74-2.4)$ vs $0.01 (-1.5-1.8)$, $p < 0.001$), FIB-4 (4.68 ± 1.95 vs 2.3 ± 0.74 , $p = 0.021$), APRI (1.69 ± 0.5 vs 0.87 ± 0.2 , $p = 0.015$) și ale pSWE (2.04 ± 0.26 vs 0.87 ± 0.22 , $p < 0.001$).

5.3.3 Performanța diagnostică a testelor studiate

Vârsta, IMC, GGT, scorul HOMA, FIB-4, APRI and HbA1C au fost predictorii semnificativi statistic pentru grupul pacienților F3/F4. (AUROC 95% CI: $0.767 (0.627-0.907)$, $0.743 (0.578-0.908)$, $0.757 (0.617-0.897)$, $0.772 (0.616-0.924)$, $0.7 (0.548-0.852)$, $0.802 (0.689-0.915)$, $0.791 (0.663-0.918)$, $p < 0.005$ în toate cazurile).

5.3.4 Factori de risc asociați cu fibroza hepatică severă

Folosind valorile cut-off obținute în urma analizei ROC, GGT-ul (>113 U/L), Vârsta (>55 ani), IMC (>30.1 kg/m²), HOMA-IR (>3.3), HbA1C ($>6.5\%$) și scorul Composite au reprezentat predictorii independenți pentru diagnosticul fibrozei severe în lotul studiat (OR 95% CI: $8.993 (2.11-38.311)$, $7.453 (1.889-29.401)$, $5.996 (1.548-23.245)$, $5.879 (1.5413-22.431)$, $6.851 (1.954-19.547)$, $4.072 (1.9-8.618)$, $p < 0.05$ în toate situațiile).

5.3.5 Stabilirea modelului clinic pentru predicția fibrozei severe

Conform rezultatelor analizei multivariate, am creat un sistem de scorificare care cuprinde următorii parametrii: valorile GGT de <113 U/L și ≥ 113 U/L au fost cuantificate ca 0 și 1, vârsta <55 ani și ≥ 55 ani a fost cuantificată ca 0 și 1, IMC <30.1 și ≥ 30.1 a fost cuantificat ca 0 și 1, indicele HOMA-IR <3.3 și ≥ 3.3 a fost cuantificat ca 0 și 1 și HbA1C $<6.5\%$ și $\geq 6.5\%$ a fost cuantificată 0 și 1. Astfel, scorul Composite a fost definit ca suma valorilor GGT, vârsta, IMC, HOMA și a HbA1C

Scorul Composite a avut cea mai bună performanță diagnostică pentru diagnosticul fibrozei severe ($0.899 (0.792-0.986)$, $p < 0.005$), urmat de scorurile NFS, APRI și FIB-4. La un cut-off de 3p, sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictiv pozitivă și valoarea predictiv negativă a fost de 85.3%, 91.2%, 79% și, respectiv, 89%.

5.4 Discuții

În spectrul clinic al FG-SM, fibroza avansată reprezintă cel mai important marker prognostic, acești pacienți având un risc mare de progresie spre ciroză decompensată și insuficiență hepatică, precum și de a dezvolta hepatocarcinom-asociat-FGNA [36] [37].

Fibroza avansată (F3/F4) a avut o prevalență de 18.7% în studiul actual, 81.3% dintre pacienți fiind încadrați în grupul fibrozei non-severe (F1/F2). Cercetări precedente care au utilizat biopsia hepatică ca metodă de referință au descris rate de prevalență ale fibrozei severe similare cu ale noastre, fiind cuprinse între 16.2% și 43.1% [38, 39].

Profilul biologic al cohorței studiate este concordant cu date obținute din studii ce au evaluat populații mari de diabetici [40, 41].

În cohorta evaluată, regresia multivariată a evidențiat că valorile GGT, vârstei, IMC, HbA1C și indicelui HOMA-IR, au fost asociate independent cu fibroza severă. Rezultatele sunt concordante cu alte studii din literatură, asocierea fibrozei severe cu elementele sindromului metabolic fiind bine documentată [42, 43].

Actualul studiu propune un nou model clinic predictiv pentru predicția fibrozei severe la pacienții diabetici, scorul Composite, folosind parametrii identificați prin analiza regresiei logistice multivariate: GGT, vârsta, IMC, HbA1C și indicele HOMA-IR. Scorul Composite a avut cea mai bună performanță diagnostică pentru diagnosticul fibrozei severe ((0.899(0.792–0.986), $p < 0.005$), urmat de scorurile NFS, APRI și FIB-4. La un cut off de 3p, sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictiv pozitivă și valoarea predictiv negativă a fost de 85.3%, 91.2%, 79% și 89%.

Studiul prezent are mai multe puncte forte. Cohorta a fost consecutiv înrolată și descrisă folosind parametrii demografici, clinici, biologici și elastografici. În particular, ne-am concentrat pe documentarea statusului diabetic al pacienților, fiind cunoscut ca factor de risc în progresia fibrozei hepatice. În urma evaluării literaturii științifice pe mai multe motoare de căutare, studiul de față este printre puținele studii care evaluează o gamă variată de parametri și legătura dintre ei într-o populație la risc de dezvoltare a fibroză hepatică avansată, cum este cea diabetică.

Cu toate acestea, există câteva limite ale protocolului de studiu. Cohorta evaluată a fost de dimensiuni mici, ce a inclus o populație de caucazieni, cu o prevalență mare a obezității și a

fibrozei severe. O altă limitare a studiului prezent este legată de valorile cut-off ale pSWE. Performanța diagnostică a acestor valori variază în funcție de brand, de sistemele de ultrasonografie folosite sau de etiologia bolii hepatice. La momentul actual nu există valori standardizate ale pSWE în cazul pacienților cu FGNA, iar valoarea cut-off >1.7m/s pentru discriminarea fibrozei severe are dovezi insuficiente, fiind necesare studii viitoare de validare pe populații mari.

5.5 Concluzii

În cazul pacienților cu DZTII, valorile IMC, GGT, vârsta avansată, HbA1C și indicele HOMA-IR, reprezintă predictorii independenți ai fibrozei avansate. Încorporând acești parametri clinici și de laborator, scorul Composite a avut o performanță diagnostică bună în identificarea pacienților diabetici la risc de a dezvolta fibroză severă.

6. Concluzii și contribuții personale

6.1 Concluzii finale

Actuala teză de doctorat este compusă din două studii:

- **“Impactul valorilor crescute ale scorului FIB-4 asupra prognosticului COVID-19 la pacienții cu diabet zaharat tip II”**
- **“Crearea unui model clinic predictiv pentru diagnosticul fibrozei severe hepatice la pacienții cu diabet zaharat tip II”**

Obiectivele primului studiului au fost reprezentate de:

- Descrierea parametrilor clinici și paraclinici a unui lot de pacienți care prezintă DZTII în prezența infecției SARS-COV2;
- Descrierea afectării hepatice a pacienților cu DZTII în prezența infecției SARS-COV2;
- Cuantificarea steatozei și fibrozei hepatice, precum și analiza lotului de pacienți diabetici în funcție de stadiul fibrozei;

- Identificarea factorilor de risc asociați cu un prognostic nefavorabil al COVID-19.

Obiectivele celui de-al doilea studiu au fost reprezentate de:

- Descrierea parametrilor clinici și paraclinici ai lotului studiat;
- Evaluarea fibrozei hepatice folosind mai multe metode non-invazive și descrierea lotului din punct de vedere al fibrozei severe;
- Evaluarea performanței mai multor parametrii în diagnosticul fibrozei severe (F>3);
- Crearea unui model clinic predictiv pentru diagnosticul fibrozei severe (F>3).

Consider că toate obiectivele prezentei teze de cercetare doctorală au fost atinse, rezultatele obținute fiind validate de rezultatele existente în literatura de specialitate.

6.2 Contribuții personale

Obiectivul principal al prezentei teze de doctorat a fost identificarea unui “standard of care” non-invaziv pentru determinarea fibrozei hepatice avansate în cazul pacienților cu DZTII. Astfel, am început cercetarea literaturii științifice și au apărut lucrările “**The severity of non-alcoholic fatty liver disease in type II diabetes**” [44] și “**Non-alcoholic fatty liver disease in diabetic patients as risk factor for poor prognosis of covid-19: an update of potential mechanisms and treatment considerations**” [7], unde, împreună cu colaboratorii mei, am sumarizat principalele relații fiziopatologice dintre aceste afecțiuni, precum și noțiuni actuale despre management. În continuare, contribuția mea personală s-a materializat în cazul primului studiu al tezei -“**Impactul valorilor crescute ale scorului FIB-4 asupra prognosticului COVID-19 la pacienții cu diabet zaharat tip II**” [45]- prin demonstrarea relației dintre fibroza avansată și evoluția nefavorabilă a bolii, dar și prin identificarea unor predictorii independenți ai prognosticului nefast al infecției SARS-COV2, fibroza avansată fiind unul dintre aceștia. Consider că aceste date aduc o contribuție importantă în stratificarea riscului pacienților cu infecție SARS-COV2 și pot să scadă costurile asociate îngrijirilor medicale, mai ales în regiunile unde afecțiunile metabolice au o prevalență mare. Ulterior, contribuția mea personală s-a materializat și în cel de-al doilea studiu – “**Crearea unui model clinic predictiv pentru diagnosticului fibrozei severe hepatice la pacienții cu diabet zaharat tip II**” - prin crearea

unei metode non-invazive de evaluare a prezenței fibrozei hepatice severe în cazul pacienților diabetici, care să fie sigură, larg disponibilă, reproductibilă și cu potențial de scădere a utilizării biopsiei hepatice.

Nu în ultimul rând, contribuția proprie a constat și în parcurgerea drumului anevoios care a dus la îndeplinirea scopului final al prezentei lucrări de cercetare doctorală, începând cu crearea metodologiei de studiu și a protocolului de evaluare al pacienților. Chiar dacă la scurt timp a explodat pandemia COVID-19 și societatea, dar mai ales sistemul medical, a fost la răscruce, s-a demonstrat că limitele există doar pentru a fi depășite, în special în domeniul sănătății. Astfel, în contextul dificultăților epidemiologice bine-cunoscute, am continuat înrolarea pacienților și examinarea lor clinică și paraclinică, urmată de colectarea informațiilor și prelucrarea lor, și, în final, cu multă muncă și documentare, înțelegerea datelor și analiza statistică.

Bibliografie

1. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2019,71,4,793-801.
2. Shili-Masmoudi S, Wong GL, Hiriart JB, Liu K, Chermak F, Shu SS, et al. Liver stiffness measurement predicts long-term survival and complications in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2020,40,3,581-9.
3. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed.* 2020,91,1,157-60.
4. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020,395,10223,497-506.
5. Zheng Z, Peng F, Xu B, Zhao J, Liu H, Peng J, et al. Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. *J Infect.* 2020,81,2,e16-e25.
6. Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q, et al. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020,94,91-5.
7. Calapod O, Marin A, Tribus L, Fierbinteanu Braticevici C. Non-alcoholic fatty liver disease in diabetic patients as risk factor for poor prognosis of covid-19: an update of potential mechanisms and treatment considerations. *Farmacia.* 2020,68,5,779-84.
8. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 1980,55,7,434-8.
9. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018,15,1,11-20.
10. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2018,67,1,328-57.

11. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005,129,1,113-21.
12. Koehler EM, Plompen EP, Schouten JN, Hansen BE, Darwish Murad S, Taimr P, et al. Presence of diabetes mellitus and steatosis is associated with liver stiffness in a general population: The Rotterdam study. *Hepatology*. 2016,63,1,138-47.
13. WHO. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data Global report on diabetes. 2016.
14. Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*. 2007,132,6,2169-80.
15. Lv S, Jiang S, Liu S, Dong Q, Xin Y, Xuan S. Noninvasive Quantitative Detection Methods of Liver Fat Content in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Transl Hepatol*. 2018,6,2,217-21.
16. Francque S, Lanthier N, Verbeke L, Reynaert H, Van Steenkiste C, Vonghia L, et al. The Belgian Association for Study of the Liver Guidance Document on the Management of Adult and Paediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Acta Gastroenterol Belg*. 2018,81,1,55-81.
17. Peleg N, Issachar A, Sneh-Arbib O, Shlomai A. AST to Platelet Ratio Index and fibrosis 4 calculator scores for non-invasive assessment of hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*. 2017,49,10,1133-8.
18. Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R, Shteingart S, Lederkremer GZ. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2015,21,41,11567-83.
19. Byrne CD, Targher G. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: is universal screening appropriate? *Diabetologia*. 2016,59,6,1141-4.
20. Fan Z, Chen L, Li J, Cheng X, Yang J, Tian C, et al. Clinical Features of COVID-19-Related Liver Functional Abnormality. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020,18,7,1561-6.
21. Ji D, Qin E, Xu J, Zhang D, Cheng G, Wang Y, et al. Non-alcoholic fatty liver diseases in patients with COVID-19: A retrospective study. *J Hepatol*. 2020,73,2,451-3.
22. Targher G, Mantovani A, Byrne CD, Wang XB, Yan HD, Sun QF, et al. Risk of severe illness from COVID-19 in patients with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and increased fibrosis scores. *Gut*. 2020,69,8,1545-7.

23. Shafrir A, Amer J, Hakimian D, Milgrom Y, Massarwa M, Hazou W, et al. Advanced Liver Fibrosis Correlates With Impaired Efficacy of Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine in Medical Employees. *Hepatol Commun.* 2022,6,6,1278-88.
24. Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020,5,5,428-30.
25. Portincasa P, Krawczyk M, Smyk W, Lammert F, Di Ciaula A. COVID-19 and non-alcoholic fatty liver disease: Two intersecting pandemics. *Eur J Clin Invest.* 2020,50,10,e13338.
26. Xia MF, Bian H, Gao X. NAFLD and Diabetes: Two Sides of the Same Coin? Rationale for Gene-Based Personalized NAFLD Treatment. *Front Pharmacol.* 2019,10,877.
27. Lazarus JV, Mark HE, Anstee QM, Arab JP, Batterham RL, Castera L, et al. Advancing the global public health agenda for NAFLD: a consensus statement. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2022,19,1,60-78.
28. Stols-Goncalves D, Hovingh GK, Nieuwdorp M, Holleboom AG. NAFLD and Atherosclerosis: Two Sides of the Same Dysmetabolic Coin? *Trends Endocrinol Metab.* 2019,30,12,891-902.
29. American Diabetes Association Professional Practice C, American Diabetes Association Professional Practice C, Draznin B, Aroda VR, Bakris G, Benson G, et al. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. *Diabetes Care.* 2022,45,Suppl 1,S17-S38.
30. Bush K, Kivlahan DR, McDonnell MB, Fihn SD, Bradley KA. The AUDIT alcohol consumption questions (AUDIT-C): an effective brief screening test for problem drinking. Ambulatory Care Quality Improvement Project (ACQUIP). Alcohol Use Disorders Identification Test. *Arch Intern Med.* 1998,158,16,1789-95.
31. Vilar-Gomez E, Chalasani N. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *J Hepatol.* 2018,68,2,305-15.
32. Campos-Murguia A, Roman-Calleja BM, Toledo-Coronado IV, Gonzalez-Regueiro JA, Solis-Ortega AA, Kusulas-Delint D, et al. Liver fibrosis in patients with metabolic associated fatty liver disease is a risk factor for adverse outcomes in COVID-19. *Dig Liver Dis.* 2021,53,5,525-33.

33. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985,28,7,412-9.
34. Barr RG, Wilson SR, Rubens D, Garcia-Tsao G, Ferraioli G. Update to the Society of Radiologists in Ultrasound Liver Elastography Consensus Statement. *Radiology*. 2020,296,2,263-74.
35. Cheah MC, McCullough AJ, Goh GB. Current Modalities of Fibrosis Assessment in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Transl Hepatol*. 2017,5,3,261-71.
36. Pocha C, Xie C. Hepatocellular carcinoma in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease-one of a kind or two different enemies? *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2019,4,72.
37. Campos-Murguia A, Ruiz-Margain A, Gonzalez-Regueiro JA, Macias-Rodriguez RU. Clinical assessment and management of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2020,26,39,5919-43.
38. Heyens LJM, Busschots D, Koek GH, Robaey G, Francque S. Liver Fibrosis in Non-alcoholic Fatty Liver Disease: From Liver Biopsy to Non-invasive Biomarkers in Diagnosis and Treatment. *Front Med (Lausanne)*. 2021,8,615978.
39. Lomonaco R, Godinez Leiva E, Bril F, Shrestha S, Mansour L, Budd J, et al. Advanced Liver Fibrosis Is Common in Patients With Type 2 Diabetes Followed in the Outpatient Setting: The Need for Systematic Screening. *Diabetes Care*. 2021,44,2,399-406.
40. Younossi ZM, Yilmaz Y, Yu ML, Wai-Sun Wong V, Fernandez MC, Isakov VA, et al. Clinical and Patient-Reported Outcomes From Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease Across the World: Data From the Global Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)/ Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Registry. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021.
41. Prashanth M, Ganesh HK, Vima MV, John M, Bandgar T, Joshi SR, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Assoc Physicians India*. 2009,57,205-10.
42. Petta S, Eslam M, Valenti L, Bugianesi E, Barbara M, Camma C, et al. Metabolic syndrome and severity of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: An age-dependent risk profiling study. *Liver Int*. 2017,37,9,1389-96.
43. Seo JA. Metabolic Syndrome: A Warning Sign of Liver Fibrosis. *J Obes Metab Syndr*. 2022.

44. Calapod O, Marin A, Tribus L, Fierbinteanu Braticevici C. The Severity of Non-Alcoholic Fatty Liver in Type II Diabetes. *Medicina Interna*. 2018;15,37-42.
45. Calapod OP, Marin AM, Onisai M, Tribus LC, Pop CS, Fierbinteanu-Braticevici C. The Impact of Increased Fib-4 Score in Patients with Type II Diabetes Mellitus on Covid-19 Disease Prognosis. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57,5.

Anexe

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

- **Din tematica tezei de doctorat**

- **Calapod OP**, Marin AM, Pantea Stoian A, Fierbinteanu-Braticevici C. Clinical Model for the Prediction of Severe Liver Fibrosis in Adult Patients with Type II Diabetes Mellitus. *Diagnostics* (Basel). 2022 Jul 29;12(8):1829. doi: 10.3390/diagnostics12081829. PMID: 36010180; PMCID: PMC9406388. ISI - **IF – 3,992**
<https://www.mdpi.com/2075-4418/12/8/1829>
- **Calapod OP**, Marin AM, Onisai M, Tribus LC, Pop CS, Fierbinteanu-Braticevici C. The Impact of Increased Fib-4 Score in Patients with Type II Diabetes Mellitus on Covid-19 Disease Prognosis. *Medicina* (Kaunas). 2021 Apr 30;57(5):434. doi: 10.3390/medicina57050434. PMID: 33946377; PMCID: PMC8147130. **ISI – IF:2.43**
<https://www.mdpi.com/1648-9144/57/5/434>
- **Calapod OP**, Marin, A.M.; Tribus, L.C.; Fierbinjeanu-Braticevici, C. Non-alcoholic fatty liver disease in diabetic patients as risk factor for poor prognosis of covid-19: An update of potential mechanisms and treatment considerations. *Farmacia* 2020, 68, 785–789. **ISI - IF: 1,443**
<https://farmaciajournal.com/issue-articles/non-alcoholic-fatty-liver-disease-in-diabetic-patients-as-risk-factor-for-poor-prognosis-of-covid-19-an-update-of-potential-mechanisms-and-treatment-considerations/>
- **Calapod, Ovidiu Paul**, Marin, Andreea Maria, Tribus, Laura Carina and Fierbințeanu-Braticevici, Carmen. "The Severity of Non-Alcoholic Fatty Liver in Type II Diabetes" *Internal Medicine*, vol.15, no.6, 2019, pp.37-42. **BDI**
<https://doi.org/10.2478/inmed-2018-0044>.

➤ **Ovidiu P Calapod**, Andreea M Marin, Minodora Onisai, Laura C Tribus, Corina S Pop, Carmen Fierbinteanu-Braticevici. The Impact of Increased Fib-4 Score in Patients with Type II Diabetes Mellitus on COVID-19 Disease Prognosis. In: P Syamasundar Rao, editor. Prime Archives in Medicine: 4th Edition. Hyderabad, India: Vide Leaf. 2022. **CAPITOL CARTE**

- Cu altă tematică

➤ Marin AM, **Calapod OP**, Moldoveanu AC, Tribus LC, Fierbințeanu-Braticevici C. Non-invasive Ultrasonographic Score for Assessment of the Severity of Inflammatory Bowel Disease. *Ultrasound Med Biol.* 2021 Apr;47(4):932-940. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.11.026. Epub 2020 Dec 30. PMID: 33388210. **IF: 2,514**

[https://www.umbjournal.org/article/S0301-5629\(20\)30535-4/fulltext](https://www.umbjournal.org/article/S0301-5629(20)30535-4/fulltext)

➤ Minodora Onisai, Ana Maria Vlădăreanu, Iuliana Iordan, Cristina Enache, **Ovidiu Calapod**, Andreea Marin, Carmen Georgeta Fierbințeanu-Braticevici, Laura Tribus. "Hematological alterations in hepatic cirrhosis – a challenge in clinical practice", *Oncolog Hematolog*, No. 54 (1) 2021 • DOI: 10.26416/OnHe.54.1.2021. **BDI**

<https://medichub.ro/reviste-de-specialitate/oncolog-hematolog-ro/modificari-hematologice-in-ciroza-hepatica-o-provocare-in-practica-clinica-id-4575-cmsid-68>

➤ Laura Tribus, Carmen Georgeta Fierbințeanu-Braticevici, Andreea Marin, **Ovidiu Calapod**, Ana Maria Vlădăreanu, Horia Bumbea, Iuliana Iordan, Minodora Onisai. "Rare disease with atypical onset and multidisciplinary approach", *Oncolog Hematolog*, No. 54 (1) 2021 • DOI: 10.26416/OnHe.54.1.2021. **BDI**

<https://medichub.ro/reviste-de-specialitate/oncolog-hematolog-ro/patologie-rara-cu-debut-atipic-si-abordare-multidisciplinara-id-4577-cmsid-68>

➤ **Calapod, Ovidiu Paul**, Marin, Andreea Maria, Tribus, Laura Carina and Fierbințeanu-Braticevici, Carmen. "Sarcopenia in cirrhosis: a systematic review" *Romanian Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology*, vol.2, no.2, 2019, pp.125-129. **BDI**

<https://doi.org/10.2478/rojost-2019-0023>

Lucrări prezentate la manifestări științifice

- "An unusual case of fulminant ulcerative colitis in a 77 years old patient" Andreea Maria Marin, **Ovidiu Paul Calapod**, Laura Carina Tribus, Carmen Fierbinteanu-Braticevici, Al 38-lea Congres National de Gastroenterologie, Hepatologie si Endoscopie Digestiva, 2018; **POSTER**
- "The use of blood and fecal biomarkers to evaluate the endoscopic activity of ulcerative colitis" **Ovidiu Paul Calapod**, Andreea Maria Marin, Laura Carina Tribus, Carmen Fierbinteanu-Braticevici, Al 38-lea Congres National de Gastroenterologie, Hepatologie si Endoscopie Digestiva, 2018; **POSTER**
- "Hereditary hemochromatosis: case study in a patient with diabetes mellitus and restrictive cardiomyopathy" **Ovidiu Paul Calapod**, Andreea Maria Marin, Laura Carina Tribus, Carmen Fierbinteanu-Braticevici, Al 38-lea Congres National de Gastroenterologie, Hepatologie si Endoscopie Digestiva, 2018; **POSTER**
- "The Impact of Increased Fib-4 Score in Patients with Type II Diabetes Mellitus on Covid-19 Disease Prognosis" **Calapod, Ovidiu Paul**, Marin, Andreea Maria, Necula, Ana, Fierbinteanu-Braticevici, Carmen, Al 41-lea Congres National de Gastroenterologie, Hepatologie si Endoscopie Digestiva, 2022; **POSTER**
- "Giant pseudoaneurysm of the splenic artery", Actualitati in Gastroenterologie, 2022; **PREZENTARE ORALĂ**
- "Complex CBD stones: know your tools", Gastromaraton, 2021; **PREZENTARE ORALĂ**
- "A rare complication in chronic pancreatitis", Raport de garda intre specialitati, 13-14 noiembrie, 2020; **PREZENTARE ORALĂ**
- "Icter egal ciroza?", Raport de garda intre specialitati, 15-16 martie 2019; **PREZENTARE ORALĂ**
- "What lies beneath", Actualități in Gastroenterologie, 29-30 septembrie 2018; **PREZENTARE ORALĂ**