

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

**ALGORITM NON-INVAZIV PENTRU STRATIFICAREA RISCULUI LA PACIENTII
CU FICAT GRAS NON ALCOOLIC(NAFLD)**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător științific: □

PROF. UNIV. DR. CARMEN FIERBINȚEANU – BRATICEVICI

Student doctorand:

Dr. Ana-Maria NECULA CAS. CALIN-NECULA

PARTEA GENERALA

I. INTRODUCERE	12
II.Date epidemiologice	13
II.1 Definiție	13
II.2 Istoria naturală	13
II.3 Prevalența	15
III.1.Conditii metabolice	18
III.2 Nutritia totala parenterala TNP	18
III.3 Tratamente chirurgicale	18
III.4 Agenti farmacologici	18
IV.1 Factorii hormonal	19
Mecanismul insulino-rezistenței la nivel musculo-scheletal.....	20
Lipoprotein lipaza hepatică.....	21
Leptina	21
Adiponectina	22
Factorul de necroză tumorală α (TNF- α).....	23
IV.2 Factorii nutritionali si disbioza intestinala	23
IV.3 Factorii genetici	24
V.1 Importanța acizilor grași liberi în dezvoltarea NAFLD	26
V.2 Rolul trigliceridelor in dezvoltarea NAFLD	26

V.3 Rolul mitocondriilor	27
VI. DIAGNOSTICUL CLINIC SI PARACLINIC AL FICATULUI GRAS NONALCOLIC	28
VI.1. ANAMNEZA.....	28
VI.2. EXAMEN CLINIC	30
VI.3. DATE DE LABORATOR	31
VI.4. Studii imagistice	36
Elastografia impulsională:	40
Elastografia în timp real:.....	41
Rezonanta magnetica (IRM)	43
Spectroscopia RMN	44
VII. DIAGNOSTICUL HISTOLOGIC AL FICATULUI GRAS NON-ALCOOLIC	44
BIOPSIA HEPATICA	44
Rolul biopsiei hepatice	46
LIMITELE BIOPSIEI HEPATICE	47
COMPLICATIILE BIOPSIEI HEPATICE	48
VIII MANAGEMENTUL NAFLD -ULUI	51
Rolul carbohidraților din dietă -fructoza	53
Pierderea în greutate	54

Tratamentul medicamentos	57
Metformin.....	57
Thiazolidinedione(TZDs)	58
Fibrații	62
Pentoxifilina	
Simtuzumab.....	63
Chirurgia bariatrica	64
Transplantul hepatic.....	65
IX. Prognostic.....	66
PARTEA SPECIALA.....	69
I.Introducere.....	70
II. Ipoteza de lucru si obiective generale	71
 II.1. Scopul studiului.....	72
 II.2. Obiectivul studiului	72
III.Metodologia cercetarii	72
 III.1. Criterii de includere	72
 III.2. Criterii de excludere.....	72
 III.3. Protocolul de evaluare a pacientilor	73
 III.4. Anamneză și examen clinicâ.....	73
 III.5. Examenle paraclinice	74
 III.6 Evaluarea steatozei și fibrozei hepatice.....	75

III.7 Analiza statistică	78
IV Rezultate	78
IV.1. Caracteristici demografice ale pacienților incluși în cercetare	78
IV.1.1. Sexul	78
IV.1.2. Vârsta	79
IV.2. Caracteristicile pacienților incluși în cercetare privind stadializarea steatozei, activității inflamatorii și fibrozei hepatice	81
IV.2.1. Steatoza hepatică	81
IV.2.2. Activitatea inflamatorie	83
IV.2.3. Fibroza hepatică	85
IV.3. Măsurătorile antropometrice ale pacienților incluși în cercetare	87
IV.3.1. Indicele de masă corporală	87
IV.3.2. Circumferința abdominală	91
IV.3.3 Diametrul longitudinal al splinei la pacienții incluși în cercetare	96
IV.4. Profilul paraclinic al pacienților incluși în cercetare în funcție de stadializarea steatozei, activității inflamatorii și fibrozei hepatice	100
IV.4.1. Profilul glicemic	100
IV.4.2. Profilul lipidic	108
IV.4.3. Profilul de analize pentru afecțiuni hepatice	118
IV.4.4. Profilul de monitorizare a funcției renale	128
IV.4.5. Evaluarea stresului oxidativ	136

IV.4.6. Feritina	144
IV.4.7. Proteina C reactivă.....	146
IV.5. Rolul testului respirator cu C¹³ octanoat în evaluarea steatozei hepatice.....	149
V.Discutii.....	173
VI.Concluzii.....	183
VII. Contributii personale.....	186
Abrevieri.....	187
Bibliografie:	190

Partea generala

1. Introducere

În ultimele decenii a devenit din ce în ce mai evident faptul că ficatul gras non-alcoolic (NAFLD) și steatohepatita non-alcoolică (NASH) reprezintă cauze principale ale afecțiunilor hepatice în țările occidentale. Date mai recente confirmă că NAFLD și NASH au un rol foarte important și în Orientul Mijlociu, Orientul Îndepărtat, Africa, Caraibe și America Latină [1].

Ficatul gras non-alcoolic reprezintă un spectru larg de tulburări hepatice caracterizate din punct de vedere histologic de steatoză hepatică de tip macrovezicular în peste 5% dintre hepatocite, în absența consumului de alcool (>10grame/zi, în cazul femeilor și >20grame/zi în cazul bărbaților) sau a unor cauze secundare de steatoză. [2]

Prevalența steatozei hepatice simple este extrem de variabilă, în funcție de populația studiată și este considerată ca fiind o manifestare a sindromului metabolic. Date recente au raportat diferențe în prevalența NAFLD între grupuri rasiale și etnice. [3]

Boala ficatului gras non-alcoolic este o afecțiune, întâlnită la pacienții care neaga consumul de băuturi alcoolice, ce cuprinde un spectru larg de leziuni hepatice: steatoza simplă definită prin acumularea de trigliceride în interiorul hepatocitelor și steatohepatita non-alcoolică care presupune inflamație hepatică lobulară, balonizarea hepatocitelor, fibroza având potențial evolutiv spre ciroză, carcinom hepatocelular până la insuficiența hepatică terminală. [4]

2. Istoria naturală

Boala hepatică grasă nonalcoolică (NAFLD), care a fost anterior cunoscută sub această denumire, reprezintă un grup de afecțiuni hepatice care nu sunt cauzate de consumul de alcool, infecții virale, afecțiuni autoimune, administrarea de medicamente sau factori genetici. Recent, denumirea acestei afecțiuni a fost schimbată în "Ficatul gras asociat disfuncțiilor metabolice" (MAFLD). [5] Această nouă nomenclatură indică corect determinanții bolii, și anume asocierea strânsă cu tulburările metabolice, și evita termenul vechi (adică, nonalcoolic). [5]

Majoritatea pacienților cu NAFLD au steatoză izolată, cu prognostic bun și risc minim de progresie spre ciroză (<4%). Pacienții cu NASH (~20-25%) au risc crescut de progresie spre fibroză și ciroză (20%). Recent, investigatorii au inclus alături de steatoza simplă și de steatohepatită o nouă entitate, steatoza cu inflamație minimă, insuficientă pentru diagnosticul

steatohepatitei. Proporția pacienților cu steatoză și inflamație minimă nu se cunoaște în mod precis, dar este evident că acești pacienți necesită supraveghere și urmărire periodică.

Prevalența NAFLD crește rapid la nivel mondial, în paralel cu creșterea obezității și a diabetului de tip 2. Prevalența NAFLD în populația generală este estimată la 20–30% în țările occidentale și 15% în țările asiatice. În Arabia Saudită, prevalența NAFLD, evaluată prin tomografie computerizată, este de aproximativ 10%. [6]

3. Diagnosticul clinic si paraclinic

Boala ficatului gras non-alcoolic este asociata cu obezitatea de tip central, cu rezistența la insulina, cu sindromul metabolic dar și cu toxicitate medicamentoasă. [7] Toate aceste lucruri se pot sublinia o anamneza aprofundată. Pentru a diagnostica eventualele boli cronice hepatice și în final să existe oportunitatea unui tratament adecvat, trebuie efectuate o baterie de teste de laborator precum determinarea antigenelor AgHbs și AgHbe, dar și AcVHC- pentru excluderea virusurilor hepatice, pentru boala Willson- dozarea ceruloplasminei, pentru excluderea hemocromatozie – dozarea alfa1 antitripsinei și transferinei, iar pentru excluderea unor patologii autoimune trebuie să dozezi un set de anticorpi specifici: anticorpii antinucleari (ANA), anticorpii anti-muschi netezi (ASMA-reprezintă un marker serologic pentru hepatita autoimună de tip 1 și ciroza biliară primitivă) și anticorpii LKM- reprezintă un marker serologic pentru hepatita autoimună tip 2, cea mai frecventă formă de hepatită autoimună juvenilă. De asemenea, sunt importante și evaluările imagistice, ultrasonografia standard și Doppler ale ficatului și ale sistemului venos portal, eventual se poate completa cu o investigație imagistică superioară de tipul tomografiei computerizate și rezonanței magnetice nucleare. [8]

Cauzele frecvente pentru steatoza sunt împartite în 2 subtipuri în funcție de gradul de steatoza. Steatoza macroveziculară are ca și cauze frecvente consumul excesiv de alcool, hepatita cronică cu virusul C, Boala Wilson, nutriția parenterală, lipodistrofia, dar și consumul unor anumite medicamente cum ar fi: amiodarona, metotrexatul, tamoxifenul și corticosteroizii. Steatoza microveziculară se întâlnește cel mai adesea la pacienții cu sindrom Reye, ficatul gras acut de sarcină, sindromul Help, anomalii genetice congenitale (boala Wolman, boala cu stocare de colesterol stratificat) dar și consumul de medicamente – Valproat și anti-retrovirale. [9] [10, 11].

Factorii metabolici de risc pentru dezvoltarea NASH includ : obezitatea, diabetul zaharat tip 2, rezistența la insulina, postul prelungit, scăderea rapidă în greutate și hipertrigliceridemia, dar și hipercolesterolemia. [12]

Ficatul gras non-alcoolic reprezintă cea mai frecventă cauză de boală hepatică cronică la nivel mondial. NAFLD este considerată o afecțiune metabolică determinată de interacțiunea dintre factorii genetici, hormonal și nutriționali, fiind recunoscuți în special ca fiind implicați stresul oxidativ, inflamația, lipotoxicitatea și peroxidarea, precum și disfuncția mitocondrială. [13]

De obicei, majoritatea pacienților sunt asimptomatici. Unii pacienți pot prezenta oboseală progresivă sau un ușor disconfort la nivelul hipocondrului drept. Se consideră că acesta apare în urma distensiei capsulei hepatice. [14]

Din punctul de vedere al antecedentelor patologice personale, ne interesează cu precădere operațiile efectuate la nivel gastric (ex: by-pass jeuno-ileal). [15] De asemenea sunt o serie de medicamente care se asociază cu boala ficatului gras non-alcoolic

Alți factori importanți care se asociază cu rezistența la insulina , care pare a avea legătura cu asocierea NAFLD dar care nu au fost raportați oficial sunt: sindromul de apnee în somn, tulburări hipotalamo-pituitare, afecțiuni psihiatrice, menstruațiile neregulate, infertilitatea și/sau hirsutismul, sindromul ovarelor polichistice (SOPC). [16] O altă asociere frecventă, cu o semnificație clinică deosebită, este cu polipii colonici și carcinomul colorectal (CRC); NAFLD se asociază cu prezența în număr mare a polipilor, polipii cu un potențial mare de malignitate, cu o rată crescută de apariție a CRC și cu un răspuns nefavorabil la tratamentul CRC. [17] Nu în ultimul rând, pacienții obezi și diabeticii, și implicit pacienții cu NAFLD, au o rată crescută de dezvoltare a calculilor biliari. [18]

Un rol important îl au și antecedentele heredo-colaterale, în special cele legate de diabetul zaharat și asocierea cu ficatul gras non-alcoolic.

Este recunoscut faptul că, frecvent, pacienții diagnosticați cu NAFLD nu prezintă nici un simptom atribuibil afecțiunii hepatice, dar, totodată, este prezentă o gamă variată de simptome debilitante, care par a nu fi asociate cu modificările hepatice de bază. O parte dintre aceste simptome pot fi atribuite condițiilor asociate NAFLD, în mod particular prezenței diabetului și afecțiunilor cardiovasculare. O contribuție importantă o are obezitatea și sindromul de apnee în somn (OSA), ambele situații fiind foarte des asociate cu NAFLD. Așa cum a mai fost discutat,

NAFLD este des diagnosticată la acei pacienți cu simptome nespecifice în condițiile unor modificări ale testelor de laborator. Aceste simptome includ fatigabilitatea, disconfort abdominal la nivelul hipocondrului drept și somnolența diurnă, dar probabil, profilul simptomelor se va extinde, pe măsură ce înțelegerea noastră asupra modalităților de prezentare a pacienților cu NAFLD se va îmbunătăți.

Diagnosticul de NAFLD este sugerat de evidențierea, uneori, a hepatomegaliei la examenul fizic sau de detectarea, la persoanele supraponderale sau care prezintă elemente ale sindromului metabolic (hiperglicemie, dislipidemie, hipertensiune), a unor modificări ale testelor funcționale hepatice, neexplicate de consumul excesiv de băuturi alcoolice sau de prezența altor tulburări hepatice, și/sau de constatarea creșterii ecogenității hepatice sau a altor trăsături ale ficatului gras, la o examinarea ultrasonografică de rutină. [19]

Examenul fizic urmărește evaluarea antropometrică (indicele de masă corporală), dar și depistarea stigmatelor unei afecțiuni hepatice cronice cum ar fi: icterul, circulația colaterală, atrofia musculară, caracteristicile ficatului (dimensiuni, margine inferioară, suprafața, consistența), dar și prezența unei posibile splenomegalii și/ sau prezența lichidului de ascită. [20]

Examenul clinic al ficatului evidențiază, în aproximativ 50% din cazuri, hepatomegalie cu consistență ușor crescută, cu margine inferioară rotunjită, suprafață regulată, nedureroasă. Dacă boala este diagnosticată într-un stadiu avansat, se pot decela semne cutanate de ciroză și semne de hipertensiune portală. [21]

Diagnosticul de ficat gras nonalcolic poate fi exprimat ulterior după excluderea altor cauze de boli hepatice și depinde în mare parte de sinceritatea pacientului în declarația sa cu privire la consumul de băuturi alcoolice. Nici un test de laborator nu indică în mod cert, prezența steatozei sau a steatohepatitei. Valorice serice crescute ale aminotransferazelor alanin-aminotransferaza (ALT) și aspartat-aminotransferaza (AST) sunt, aparent singurii indicatori biochimici ai NAFLD. Este important de reținut că valorile transaminazelor nu se corelează în totalitate cu activitatea histologică, precum și faptul că enzimele pot avea valori normale în ciuda afectării hepatice avansate. În timp ce aminotransferazele sunt singurele enzime hepatice afectate, ocazional putem întâlni și valori ușor crescute ale fosfatazei alcaline (FA). Exceptând cazurile de boală avansată, bilirubina, albumina și factorii de coagulare sunt în limite normale. [22]

Utilizând ultrasonografia ca standard de referință, FLI reprezintă o metodă excelentă de diagnostic, ce prezintă o acuratețe de 84% în detectarea ficatului gras. Mai mult, s-a demonstrat că scoruri

înalte ale FLI se asociază cu risc crescut de DZ tip II, evenimente coronariene și ateroscleroză carotidiană precoce.

SteatoTest-ul cuprinde o serie de markeri biochimici ce include: varsta, sex, indice de masa corporala (BMI), ALT, Bilirubina totala, gamma glutamil-transpeptidaza, colesterolul, trigliceridele, glicemia, α 2- macroglobulina, apolipoproteinaA1, haptoglobina- acestea prezic steatoza cu o sensibilitate si o specificitate de 90%. [23]

NASH Test-ul trebuie efectuat numai daca Steato-testul este pozitiv.

In ceea ce priveste markerii serici ai fibrozei, mentionam raportul AST/ALT si testul APRI, calculat dupa formula $ASTx 100/nr. Trombocite \times 10^9/l$. [24]

FibroTest-ul in prezent poate fi folosit si pentru testarea activitatii necroinflamatorii, cat si a fibrozei, in ficatul gras non-alcoolic. Acest test este alcatuit din 5 markeri: α 2- macroglobulina, apolipoproteinaA1, haptoglobina, bilirubina totala si GGT. [25]

FibroMax-ul cuprinde o baterie de markeri serici folositi pentru diagnosticul predictiv al fibrozei hepatice, ce contine 5 teste: Steato-test, ActiTest- determina gradul inflamatiei si al necrozelor hepatocitare, NASH Test-ul pentru diagnosticul steatohepatitei non-alcoolice, ASH Test-ul pentru diagnosticul hepatitei alcoolice severe, FibroTest-ul care prezice gradul de fibroza. Fibromaxul utilizeaza valorile a 10 parametrii in functie de varsta, greutate, sex. Inaltime, si ALT, Bilirubina totala, gamma glutamil-transpeptidaza, colesterolul, trigliceridele, glicemia, α 2- macroglobulina, apolipoproteinaA1, haptoglobina si glicemia bazala.

Fib-4 este un scor utilizat pentru evaluarea stadiului fibrozei hepatice, bazat pe măsurarea nivelurilor serice de aspartat aminotransferază (AST) și alanin aminotransferază (ALT) și a prezenței sau absenței infecției cu virusul hepatitic C. Acest scor poate fi utilizat în cadrul evaluării non-invazive a fibrozei hepatice și poate ajuta la determinarea stadiului de boală hepatică și la stabilirea planului de tratament corespunzător. Scorul Fib-4 se calculează utilizând formula matematică care combină valorile serice de AST și ALT cu vârsta pacientului și cu nivelul plachetelor sanguine (trombocitelor) și poate fi interpretat în funcție de valorile critice prestabilite. [26]

NAFLD Fibrosis Test este un test non-invaziv utilizat pentru a evalua gradul de fibroză hepatică la pacienții cu boală hepatică grasă non-alcoolică (NAFLD). Acest test se bazează pe nivelul a patru biomarkeri: varsta, AST (aspartat aminotransferaza), ALT

(alaninaminotransferaza) și albumina, care sunt analizați împreună cu factorii de risc individuali, precum indicele de masă corporală (IMC), prezența diabetului sau a hipertensiunii arteriale.

HOMA-IR-descrișă pentru prima dată în 1985 de către Matthews și colaboratorii săi, indicele HOMA pornește de la ipoteza conform căreia relația dintre glicemia bazală și insulinemia bazală indică echilibrul dintre producția de insulină de la nivelul pancreasului și producția de glucoză de la nivelul ficatului. Această metodă poate fi aplicată indiferent de vârstă, sex sau etnie.

Metodele imagistice au capacitatea de a confirma steatoza, dar și ajuta la monitorizarea evoluției steatozei și pot detecta aspecte agravante ale NAFLD, fibroza – în principal prin tehnici elastografice și ciroza, la fel ca și complicații ale acestora, precum hipertensiunea portală sau carcinomul hepatocelular. Pentru diagnosticul steatozei hepatice ca și metode imagistice se folosesc ecografia abdominală standard, tomografia computerizată, rezonanța magnetică nucleară, spectroscopia RMN. Aceste metode nu pot diferenția steatoza de steatohepatită. Metodele imagistice au un rol important în diagnosticul și evaluarea pacienților cu NAFLD.

O tehnică imagistică specială este elastografia tranzitorie, care permite cuantificarea steatozei prin parametrul de atenuare controlată (CAP). Metode superioare sunt spectroscopia magnetică sau densitatea protonică a fracției lipidice, modalități excelente de cuantificare a steatozei utilizate în studii clinice. Tomografia computerizată este o metodă imagistică ce detectează infiltrația grasă a ficatului prin atenuarea scăzută a imaginii acestuia comparativ cu a splinei sau a regiunii paraspinale. Sensibilitatea acestei metode în detectarea NAFLD este de 90%. [27] Imagistica prin rezonanță magnetică este cea mai sensibilă metodă, ea poate cuantifica steatoza, dar este cea mai scumpă. Aceste tehnici imagistice nu pot diferenția steatoza de steatohepatită și, de asemenea, nu pot preciza stadiul bolii (gradul inflamației sau prezența fibrozei hepatice). [28]

Ultrasonografia (US) reprezintă principala modalitate de diagnosticare a NAFLD și este cea mai utilizată tehnică la nivel mondial atât prin disponibilitate, cât și prin caracteristici, fiind neinvazivă și fără risc de radiații. Parenchimul hepatic normal are ecostructură omogenă, asemănătoare cu cea a rinichiului și a splinei. Acumularea intracelulară a lipidelor determină creșterea ecogenității parenchimului hepatic, care se vizualizează hiperecogen (aspect de „bright liver”- „ficat stralucitor”).

Ultrasonografia elastografică (tranzitorie) este o metoda sensibilă pentru stadializarea fibrozei hepatice și cu ajutorul ei, se poate determina rigiditatea țesutului hepatic, știind că rigiditatea hepatică este corelată cu gradul de fibroză. Aparatul pentru această explorare se numește FibroScan. [29]

Reprezintă o tehnică imagistică utilizată în aprecierea elasticității țesutului hepatic și poate fi utilizată în caracterizarea steatozei prin (CAP) și stadializarea fibrozei hepatice.

Elastografia impulsională-principiul metodei de cuantificare a fibrozei hepatice la pacienții cu boli hepatice cronice constă în integrarea unei sonde ecografice în axul unui dispozitiv vibrator (Fibroscan, Echosens, Franța). Acest dispozitiv emite vibrații de amplitudine medie și frecvență joasă (50Hz), care se propagă sub formă de undă în interiorul ficatului. Se măsoară viteza, care este direct proporțională cu deformabilitatea țesutului, deci în relație cu duritatea acestuia. [30]

Cu cât este mai mare rigiditatea țesutului hepatic, cu atât unda se va propaga mai rapid.

Metoda permite evaluarea atât a fibrozei, cât și a steatozei hepatice.

Elastografia ultrasonografică în timp real (RTE-US) permite detectarea comportamentului mecanic al țesuturilor printr-o analiză a semnalelor ultrasonografice reflectate spre sondă în timp ce țesuturile sunt comprimate și decomprimate, oferind astfel informații complementare cu cele obținute prin ultrasonografie convențională. Distribuția elasticității tisulare este calculată în timp real și rezultatul examinării este afișat ca imagine codificată color, transparentă și suprapusă peste imaginea în scală gri a structurilor examinate. O abordare recentă a interpretării examinărilor elastografice, care să elimine subiectivismul uman, a fost realizată prin analiză dinamică folosind histograme color (analiză computerizată post-procesare) pentru fiecare cadru color din componența unei examinări elastografice.

4. DIAGNOSTICUL HISTOLOGIC AL FICATULUI GRAS NON-ALCOOLIC

În bolile inflamatorii cronice hepatice, biopsia hepatică reprezintă încă standardul de aur pentru diagnosticul leziunilor hepatice. Complicațiile biopsiei hepatice nu sunt frecvente dar pot fi dramatice. Mortalitatea raportată este aproximativ 1 caz la 1000 de biopsii hepatice, iar complicații majore apar la aproximativ 0,3%.

Biopsia hepatică rămâne metoda standard de confirmare a diagnosticului de NASH, de stadializare a fibrozei, de stabilire a gradului de activitate, precum și de evaluare a răspunsului

la tratament. Trăsăturile histologice specifice steatohepatitei sunt: steatoza hepatocelulară, degenerescenta balonizantă a hepatocitelor, infiltratul inflamator mixt, necroza hepatocitară, nucleii glicogenați și corpii Mallory. Principala limită este eroarea de recoltare (eșantionare), care poate duce atât la subestimare, cât și la supraevaluarea severității bolii. De asemenea, este o investigație scumpă, necesită expertiză pentru interpretare și are risc mic, dar potențial de morbiditate și chiar mortalitate. Biopsia hepatică poate oferi informații prognostice și, mai ales, poate exclude alte afecțiuni hepatice concomitente. [31]

Biopsia hepatică poate fi sursa de erori datorită dimensiunii reduse a fragmentului prelevat, sau de dimensiuni necorespunzătoare ale acului de puncție.

Complicațiile pot fi minore – durere, reacții vagale, hipotensiunea arterială, sau majore. Durerea după biopsia hepatică percutanată apare la 25% dintre pacienți, este trecătoare, are o intensitate redusă și este resimțită ca disconfort la locul puncției, uneori are iradiere la nivelul umărului drept și necesită analgezie ușoară. Dacă durerea are intensitate crescută trebuie luată în calcul apariția unor complicații majore, precum hematumul subcapsular, hematumul intrahepatic, hemobilie sau hemoragia intraperitoneală. După biopsie, pot apărea hematoame subcapsulare sau intrahepatice de dimensiuni mici – de obicei pacienții sunt asimptomatici. [32]

Hemoragia intraperitoneală este cea mai gravă complicație hemoragică a biopsiei hepatice și apare în primele 2-3 ore post-procedură.

5. MANAGEMENTUL NAFLD -ULUI

Pierderea în greutate rămâne tratamentul standard al NAFLD în prezența excesului de greutate sau a obezității, dar tratamentul alimentar optim este necunoscut. Au fost raportate restricții severe de calorii și CHO pentru a duce la dispariția aproape completă a trigliceridelor la nivel hepatic în decurs de două săptămâni, dar astfel de programe nu pot fi menținute pe termen lung. [33] La pacienții obezi cu diabet zaharat de tip 2 moderat, dieta hipocalorică, foarte săracă în grăsimi (3%), a dus la o pierdere în greutate cu 10%, ceea ce a dus la scăderea cu 80% a lipidelor hepatice. [34]

Toți pacienții trebuie avertizați că stilul de viață corect și dieta sănătoasă îmbunătățesc prognosticul, reduc steatoza și previn progresia bolii hepatice. Recomandările ar trebui adaptate preferințelor individuale și ar trebui să includă o reducere a aportului de grăsimi saturate și grăsimi

trans, o cantitate mai mare de fibre și acizi grași omega-3 și aport redus de zahăr rafinat, CHO, băuturi răcoritoare și sucuri de fructe.

O dietă corectă ar trebui să fie întotdeauna asociată cu exerciții fizice zilnice regulate. Scopul final este scăderea în greutate la supraponderali sau pacienți obezi cu NAFLD.

6. Tratamentul medicamentos

Metformin-ul este o biguanidă orală al cărui mecanism molecular nu este pe deplin elucidat, în ciuda experienței clinice îndelugate în utilizarea sa. Biguanidele, și implicit Metformin-ul, reprezintă terapia de elecție folosită în cazul pacienților obezi, cu diabet zaharat; acțiunea de glucoreglare având loc, în primul rând, la nivelul ficatului, prin reducerea producției de glucoză, și în al doilea rând, la nivelul țesuturilor periferice, unde favorizează preluarea glucozei. [35]

Thiazolidinedione(TZDs)- reprezintă o categorie de medicamente antidiabetice al cărui rol potențial în tratamentul NASH, este încă evaluat. [35]

Acid ursodeoxicolic (UDCA)- are multe mecanisme presupuse atractive de acțiuni care au determinat testarea acestuia ca terapie potențială pentru NAFLD. Pe lângă modificarea fondului de acizi biliari, UDCA are efecte coleretice, antiinflamatorii și efecte anti-apoptotice și de asemenea poate modula răspunsul sistemului imunitar și integritatea mitocondrială.[234] Studiile anterioare au raportat îmbunătățirea ALT și a steatozei la pacienții cu NAFLD și UDCA în doză zilnică de 12–15 mg/kg singur sau atunci sau asociat cu vitamina E.[35]

Chirurgia bariatrică este considerată a fi cea mai bună modalitate terapeutică în cazul pacienților cu obezitate morbidă sau comorbidități asociate, precum sindromul de apnee în somn, diabet zaharat tip II și hipertensiune arterială[36]

Transplantul hepatic - este necesar în cazul instalării insuficienței hepatice. 30-40% din pacienții cu ciroză asociată NASH-ului necesită transplant hepatic. Din păcate, steatohepatita non-alcoolică poate apărea și post-transplant.[37,]

7. Prognostic

Mai multe studii realizate considera steatoza simplă ca fiind o afecțiune benignă. Progresia spre ciroza este foarte rară aproximativ 3%. Oricare ar fi forma de boală, mecanismul inițial este același, rezistența la insulină, în timp ce diferitele aspecte histologice sunt consecința evenimentelor secundare.[38]

În ceea ce privește potențialul de progresie, pacienții NAFLD se împart în două mari categorii: NASH și non-NASH. Subtipul non-NASH al NAFLD include toți pacienții cu steatoză

simplă , precum și pacienții cu steatoză și modificări nespecifice. Deși NASH are un potențial ridicat de a dezvolta boli hepatice, subtipul non-NASH nu progresează, sau progresează foarte încet. [39]

Partea speciala

1. Introducere

Boala ficatului gras non-alcoolic (NAFLD) este o afecțiune hepatică asociată sindromului metabolic și cuprinde mai multe tipuri de afecțiuni clinico-patologice: ficatul gras non-alcoolic (NAFL), steatohepatita non-alcoolică (NASH) fibroza și ciroza. Această boală se caracterizează prin acumularea de trigliceride la nivelul ficatului, într-o proporție mai mare de 5%, și prin excluderea altor cauze de steatoză hepatică. NAFLD a devenit o cauză importantă de mortalitate asociată bolilor hepatice. Prevalența estimată a acestei afecțiuni a atins dimensiuni pandemice, afectând aproximativ o treime din populația generală. [1].

Diagnosticul corect al NASH implică biopsia hepatică, singura procedură care poate diferenția între NAFLD și NASH [40]. În continuare biopsia hepatică rămâne standardul de aur pentru diagnostic , aceasta investigație este însă o procedură invazivă, cu riscuri semnificative, inclusiv mortalitate. Procedura este, de asemenea, supusă unui număr de erori, inclusiv erori de eșantionare și interpretare, precum și variabilitate între observatori [1].

Din cauza riscului de erori de stadializare și diagnosticare la un număr semnificativ de pacienți, datorită prejudecății de confirmare histologică, și din cauza faptului că biopsia hepatică este o metodă invazivă care poate implica diverse complicații, există o cercetare în desfășurare cu privire la potențiala eficacitate a testelor neinvazive în identificarea indivizilor cu risc crescut de progresie a bolii. Mulți pacienți refuză să se supună biopsiei hepatice din cauza naturii sale invazive și a potențialelor complicații. În acest context, se explorează alternativele neinvazive care pot furniza informații relevante pentru identificarea pacienților cu risc crescut de evoluție a bolii.

Un aspect central în fiziopatologia NASH este modificarea beta-oxidării hepatice. Se observă acumularea de grăsime în ficat, împreună cu o creștere a absorbției hepatice și sintezei acizilor grași liberi (AGL), care este compensată de o beta-oxidare mitocondrială și cetogeneză crescută [40]. În lumina acestor constatări, evaluarea non-invazivă a metabolismului hepatic al acizilor grași ar putea oferi informații mai precise despre progresia de la steatoza la steatohepatită și ar putea fi utilă în monitorizarea eficacității tratamentului.

În urmă cu patruzeci de ani, testele respiratorii bazate pe ^{13}C au fost aplicate pentru investigarea neinvazivă a funcției mitocondriale hepatice [41]. Un test non-invaziv cu o bună practicabilitate în investigarea funcțiilor hepatice poate fi considerat testul respirator cu acid ^{13}C -octanoic. Acidul octanoic este un acid gras cu lanț mediu format din opt atomi de carbon, iar octanoatul de sodiu este sarea de sodiu a acestui acid. Inițial, acidul octanoic a fost validat pentru utilizarea într-un test respirator non-invaziv pentru a evalua rata de golire gastrică a solidelor [41]. Acidul octanoic prezintă avantajul de a fi absorbit rapid în intestinul subțire și transportat prin vena portă către ficat, unde este metabolizat prin beta-oxidare în acetyl-CoA și CO_2 [302]. CO_2 rezultat este ulterior eliminat prin expirație și poate fi colectat în probe de respirație la diferite intervale de timp. Aceasta permite monitorizarea și cuantificarea eliberării de CO_2 în timp, oferind informații despre metabolismul acidului octanoic și funcția hepatică asociată.

2. Ipoteza de lucru și obiective generale

Argumentele prezentate mai sus au stat la baza studiului meu care compune actuala teză de doctorat pe care o vom detalia în următoarele capitole.

În perioada doctoratului, în care mi-am desfășurat activitatea în Spitalul Universitar de Urgență București, o patologie în creștere cu care ne-am confruntat a fost boala ficatului gras non-alcoolic. Având în vedere și prevalența globală a NAFL, interesul meu a crescut pentru această patologie și mi-am dorit să cercetez și să urmăresc această direcție de studiu, de a descrie afectarea hepatică și de a evalua fibroza hepatică prin noi strategii non-invazive care să permită evaluarea întregului spectru al NAFLD. În acest context a luat naștere studiul „**Algoritm non-invaziv de stratificare a riscului la pacienții cu ficat gras-nonalcoolic**”

2.1. Scopul studiului a fost de a dezvolta noi strategii non-invazive care să permită evaluarea întregului spectru al NAFLD.

2.2. Obiectivul studiului nostru a fost de a evalua eficacitatea testului respirator cu ^{13}C -Octanoat (OBT), ca marker surogat al funcției mitocondriale, în diferențierea pacienților cu NASH de pacienții cu steatoză simplă (NAFL).

3. Metodologia cercetarii

Studiul are un design de tip analitic, prospective, in care au fost inclusi pacienti evaluati in cadrul Sectiei de Gastroenterologie a Spitalului Universitar de Urgenta Bucuresti. Studiul a fost aprobat de Comitetul local de Etica al Spitalului Universitar de Urgenta Bucuresti (nr.22052/ 11 mai 2015), si toti pacientii inclusi in studiu au semnat un consimtamant informat si au urmat un protocol.

3.1. Criterii de includere

Criteriile de includere au constat in:

- varsta peste 18 ani
- diagnostic stabilit de NAFLD confirmat histologic
- fara nici o alta boala hepatica coexistenta
- dorinta pacientului de a participa in studiu
- capacitatea de a tolera protocolul de studiu

3.2. Criterii de excludere

Criteriile de excludere au constat in:

- Prezenta altor patologii hepatice si anume:
 - hepatitele virale
 - boala hepatica indusa de alcool (s-a dorit un consum estimat mai mic de < 20 mg/zi pentru femei și < 30 mg/zi pentru bărbați)
 - Hemocromatoza
 - Boala Wilson
 - Carcinomul hepatocelular
 - Boala hepatica indusa de medicamente
 - Pacientii cu medicamente care pot interfera cu metabolismul octanoatului sau care pot provoca BFGNA (ex. Amiodarona, corticosteroizi, metotrexat, tetraciclina, acid valproic, zidovudina)
- Prezenta altor c omorbiditati (BPOC severa , Astm sever, Insuficienta cardiaca congestica clasa III NYHA si sindroamele de malabsorbtie)
- Prezenta Sarcinei

- Hipersensibilitatea la octanoat de sodiu 13C
- Boala acută recentă care a necesitat tratament medical sau chirurgical (ultimele 3 luni)
- Pacientii care au participat la alte studii clinice.

4. Protocolul de evaluare a pacienților

În perioada octombrie 2015 – septembrie 2018, au fost incluși în studiu conform criteriilor mai sus menționate, toți pacienții evaluați în cadrul Secției de Gastroenterologie a Spitalului Universitar de Urgență București. Fiecare pacient a fost supus unui protocol de testare, care a inclus un examen clinic, explorări paraclinice, ecografie abdominală standard și testul respirator cu octanoat 13C. Diagnosticul definitiv de steatohepatită non-alcoolică a fost stabilit prin biopsie hepatică cu modificările histologice caracteristice. Toate testele au fost efectuate în interval de 72 de ore de la înrolarea în studiu, cu excepția notabilă a biopsiei hepatice, care a fost efectuată în ultimele 6 luni.

5. Anamneză și examen clinic

Pentru început toți pacienții au fost supuși unei evaluări complete, inclusive date demografice, ce au cuprins, vârsta, sexul dar și istoricul medical, inclusiv măsurarea înălțimii, greutatei, circumferința taliei. Tuturor subiecților li s-a aplicat chestionarul CAGE pentru a investiga consumul de băuturi alcoolice. Examenul clinic obiectiv a fost realizat pe aparate și sisteme.

6. Examenul paraclinic

Recoltarea probelor biologice a fost realizată în condiții de repaus digestiv și a inclus: hemoleucograma completă, alanin aminotransferază (ALT), aspartat aminotransferază (AST), albumina serică, γ -glutamil transpeptidază (GGT), bilirubină totală, bilirubină directă, fosfatază alcalină, raport internațional normalizat (INR), glucoză, colesterol, inclusiv fracțiile de lipoproteine cu densitate înaltă (HDL) și lipoproteine cu densitate joasă (LDL), trigliceride, acid uric, concentrația serică de fier și feritină, uree, creatinină, antigen HBs, anticorpi anti VHC, anticorpi anti-mitocondriali, ceruloplasmină serică, alfa-feto-proteină, anticorp antinuclear, alfa1-antitripsină, HbA1c. Dispozitivele utilizate pentru analiza probelor au inclus CELL-DYN 370

(Abbot Diagnostics), ARCHITECT c8000 (Abbot Diagnostics), ACL TOP 500 (Laborator de instrumente), Access 2 Imunoassay System (Imunoassay System), analizor Dimension RXL (Dade Behring).

7. Evaluarea steatozei și fibrozei hepatice

Toți pacienții au fost investigați prin ultrasonografie (US) folosind aparatul Acuson S2000 (Siemens AG). Clasificarea "bright liver- aspect stralucitor".sau a steatozei hepatice (NAFL) s-a bazat pe o scară de hiperecogenitate în patru puncte în funcție de diferența dintre densitățile ficatului. și rinichiul drept.

Toți pacienții incluși au fost supuși evaluării histologice prin biopsie hepatică percutanată în interval de 6 luni anterior includerii în studii.

Testul respirator cu ^{13}C -Octanoat este un test non-invaziv propus ca o alternativă la biopsia hepatică, precum și la alte teste non-invazive. Testele de respirație presupun pacientului să i se administreze un substrat marcat cu izotopul stabil de carbon 13, care va fi apoi metabolizat, în funcție de metabolismul normal al fiecărui substrat, excretat și apoi măsurat. Octanoatul ^{13}C are proprietăți fizice și chimice care îl pot face un substrat adecvat pentru evaluarea β -oxidării mitocondriale hepatice prin intermediul unui test de respirație. Octanoatul [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$], un acid gras cu lanț mediu, este absorbit rapid din intestin fără încorporare prealabilă în micelle și transportat rapid la ficat prin sistemul venos portal. În hepatocite, suferă β -oxidare în mitocondrii, producând acetil coenzima A (CoA). Acetil CoA intră în ciclul Krebs și este oxidat la CO_2 , care va fi apoi transportat prin circulația sistemică la plămâni și eliminat în respirație [303]. $^{13}\text{CO}_2$ expirat este captat în pungi special concepute pentru testul respirației, care sunt apoi analizate folosind un spectrometru cu infraroșu $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

Testul respirator a fost efectuat după un repaus digestiv de minim 12 ore, iar în timpul testului au fost interzise activitate fizică și orice consum de alimente. După colectarea primului eșantion de control de aer într-o pungă, fiecare subiect a ingerat 100 mg octanoat marcat cu izotop stabil, neradioactiv ^{13}C (^{13}C -octanoat de sodiu, Hanseaten-Apotheke) dizolvat în 200 ml apă. Probele de respirație au fost colectate la momentul inițial și la 0, 15, 30, 45, 60 și 120 de minute de la administrarea substratului. Analiza a fost efectuată în maxim 60 de minute de la recoltarea ultimei probe. Parametrii mășurați au inclus $^{13}\text{CO}_2$ eliberat prin respirație în urma metabolizării acidului octanoic și au constat în: viteza de metabolizare (PDR [%/h]) și capacitatea totală cumulată de

metabolizare a acidului octanoic în funcție de timp (cPDR [%]). Analizorul a efectuat toate măsurătorile pentru un singur pacient simultan și a calculat automat PDR și cPDR pentru fiecare interval de timp. Rezultatele au fost exprimate sub forma grafică -curbe ale celor 2 parametrii în funcție de valorile obținute în diferite intervale de timp.

8. Analiza statistica

Colectarea datelor s-a făcut prin introducerea lor în programul Microsoft Office Excel, iar după aceea, baza de date din MS Excel a fost recodificată și transpusă în SPSS. Analiza statistică a datelor colectate a fost realizată utilizând programul Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versiunea 23.0.

9. Rezultate si discutii

În studiul nostru au fost incluși 81 de pacienți, dintre care 10 pacienți prezintă fibroză hepatică gradul I, 8 gradul II, 12 pacienți gradul III și 19 pacienți gradul IV iar 32 de pacienți nu prezintă fibroza hepatică. Distribuția pacienților în funcție de gradul fibrozei hepatice nu este egală ($p < 0,001$).

Dintre cei 81 pacienți incluși în studiu, 32 pacienți nu prezintă fibroză hepatică. 10 pacienți prezintă gradul I de fibroză hepatică, 8 gradul II, 12 pacienți gradul III și 19 pacienți gradul IV. Distribuția pacienților în funcție de gradul fibrozei hepatice nu este egală ($p < 0,001$).

Gradul fibrozei hepatice se corelează pozitiv semnificativ statistic cu activitatea inflamatorie ($\rho = 0,513$; $p < 0,001$), adică cu cât crește gradul fibrozei hepatice cu atât crește gradul activității inflamatorii, și invers. (tabel nr. 1) Vârsta pacienților incluși în studiu se corelează pozitiv semnificativ statistic cu gradul fibrozei hepatice ($\rho = 0,277$; $p = 0,012$), adică cu cât crește vârsta pacienților cu atât crește gradul fibrozei hepatice, și invers. (tabel nr. 1)

Tabel nr. 1. Corelațiile vârstei cu gradul de steatoză hepatică, activitatea inflamatorie și gradul de fibroză hepatică

1.		Vârsta (ani)	Grad steatoză hepatică	Activitate inflamatorie	Grad fibroză hepatică
Vârsta (ani)	Coef.corelație Pearson	1	0,186	0,073	0,277*
	p value		0,096	0,517	0,012
Grad steatoză hepatică	Coef.corelație Pearson	0,186	1	-0,053	-0,185
	p value	0,096		0,638	0,099
Activitate inflamatori e	Coef.corelație Pearson	0,073	-0,053	1	0,513**
	p value	0,517	0,638		<0,001
Grad fibroză hepatică	Coef.corelație Pearson	0,277*	-0,185	0,513**	1
	p value	0,012	0,099	<0,001	
*. Corelația este semnificativă la nivelul 0,05					
**. Corelația este semnificativă la nivelul 0,01					

Media vârstei pacienților incluși în studiu diferă semnificativ statistic în funcție de gradul de fibroză hepatică ($p=0,016$). Vârsta medie a pacienților fără fibroză hepatică este de $44,63 \pm 13,45$ ani. Pacienții cu gradul I au vârsta de $57,10 \pm 12,52$ ani, cei cu gradul II au media vârstei de $50,25 \pm 9,04$ ani, cei cu gradul III $51,83 \pm 7,31$ ani, cei cu gradul IV au $54,21 \pm 11,46$ ani.

Distribuția pacienților în funcție de gradul de fibroză hepatică este diferită semnificativ statistic în funcție de sex ($p=0,033$). Dintre pacienții de sex masculin, 11 nu prezintă fibroză hepatică, 3 au gradul I de fibroză hepatică, 2 au gradul II, 9 pacienți au gradul III și 12 pacienți au gradul IV. Dintre femeile participante la studiu, 21 nu prezintă fibroză hepatică, 7 au gradul I de fibroză hepatică, 6 au gradul II, 3 paciente au gradul III și 7 paciente gradul IV.

Diferențele dintre bărbați și femei sunt influențate de factori socio-culturali (diferențe de gen) care ar trebui clar delimitate de diferențele biologice de sex. Atât diferențele de gen cât și cele de sex se află la baza variației biologice și a variabilității bolii, precum și a progresiei acesteia. De

aceea, includerea sexului și vârstei în evaluarea riscului, prevenirea bolilor și determinarea tratamentului este crucială. [42].

În studiul actual, au fost incluși 81 pacienți, fără diferențe semnificative statistic în ceea ce privește ponderea fiecăruia dintre sexe ($p=0,505$). De asemenea, distribuția pacienților în funcție de sex și grupul de studiu (steatoză hepatică/steatohepatită) nu înregistrează diferențe cu semnificație statistică ($p=0,083$).

Singh și colab. au afirmat că circumferința abdominală constituie un predictor independent al gradului de necroză și inflamație hepatică. [43]. Stranges și colab. au demonstrat că circumferința abdominală se corelează mai bine cu GGT decât indicele de masă corporală. Această corelație a fost demonstrată la ambele sexe. [44]. La pacienții incluși în studiul nostru, a fost identificată corelația pozitivă semnificativă statistic între circumferința abdominală și gradul de steatoză hepatică, cu cât circumferința abdominală este mai mare cu atât gradul steatozei este mai mare și invers ($p=0,001$). AUC pentru circumferința abdominală are valoarea 0,664, acceptabilă în ceea ce privește acuratetea utilizării circumferinței abdominale ca predictor pentru steatoza.

Valoarea minimală a cut-off-ului pentru circumferința abdominală este 81,50 cm.

Rezultatele noastre relevă constatări similare cu cele prezentate de Franczani și colab, care arată că circumferința abdominală este asociată cu NASH, însă la analiza regresiei logistice nu apare ca fiind un predictor cu semnificație statistică. Franczani consideră că odată apărută steatoza hepatică, obezitatea viscerală nu mai constituie un determinant major în ceea ce privește severitatea leziunilor hepatice. [45].

Indicele de masă corporală a fost studiat în vederea stabilirii unei valori prag ca indicator pentru NASH [46]. La cei 81 de pacienți incluși în studiu, am observat că indicele de masă corporală este semnificativ statistic mai mare la pacienții cu steatohepatită față de cei cu steatoză hepatică ($p=0,017$). De asemenea, indicele de masă corporală se corelează pozitiv semnificativ statistic cu activitatea inflamatorie ($p=0,004$).

Rezistența la insulină constituie principalul determinant al steatogenezei și probabil al bolii hepatice. [47] În vederea recunoașterii acestui determinant, rezistența la insulină ar trebui evaluată la toți pacienții incluși în studiu. Astfel că, la toți cei 81 pacienți incluși în cercetare au fost evaluați doi parametri: glicemia a jeun și indicele HOMA, una dintre metodele validate de evaluare a rezistenței la insulină [48].

Studiul nostru demonstrează corelația pozitivă între glicemie și gradul de fibroză hepatică ($p=0,005$), precum și dintre indicele HOMA și fibroza hepatică ($p<0,001$), atât glicemia, cât și indicele HOMA înregistrând valori cu atât mai ridicate cu cât gradul de fibroză hepatică este mai mare.

Glicemia a jeun nu diferă semnificativ statistic la pacienții cu steatohepatită comparativ cu cei cu steatoză hepatică ($p=0,089$), însă indicele HOMA este semnificativ statistic mai mare în rândul pacienților cu steatohepatită ($p=0,022$).

În rândul celor 81 pacienți incluși în studiu, se înregistrează valori ale trigliceridelor semnificativ statistic mai mari la cei cu steatohepatită ($p=0,049$), iar valoarea trigliceridelor crește semnificativ odată cu activitatea inflamatorie ($p=0,032$), cât și cu gradul de fibroză hepatică ($p=0,012$).

Cercetarea noastră demonstrează relația dintre valorile GGT și afectarea hepatică, existând o corelație pozitivă semnificativă între valorile GGT și gradul de fibroză hepatică ($p<0,001$) și activitatea inflamatorie ($p<0,001$). De asemenea, media GGT la pacienții cu steatoză hepatică incluși în studiu este semnificativ statistic ($p<0,001$) mai mică față de media GGT în rândul pacienților cu steatohepatită participanți la cercetare.

În studiul nostru, MDA și GSH se corelează pozitiv semnificativ statistic cu activitatea inflamatorie ($p<0,001$) și cu gradul fibrozei hepatice ($p<0,001$). MDA la pacienții cu steatoză hepatică incluși în studiu este semnificativ statistic ($p<0,001$) mai mică față de pacienții cu steatohepatită, iar glutatiunea serică GSH este semnificativ statistic ($p<0,001$) mai mică la pacienții cu steatohepatită. GSH, este parametrul de protecție a celulelor hepatice în fața stresului oxidativ. Creșterea valorilor radicalilor liberi, obiectivati în studiul nostru prin valorile crescute ale MDA, predominant la pacienții cu NASH, justifică valorile semnificativ scăzute ale GSH -ului la pacienții cu steatohepatită.

Starea inflamatorie a fost demonstrată prin valorile semnificativ mai mari ale parametrilor de inflamație, reflectată prin evaluarea PCR. PCR se corelează semnificativ statistic cu activitatea inflamatorie ($p<0,001$) și cu gradul fibrozei hepatice ($p<0,001$).

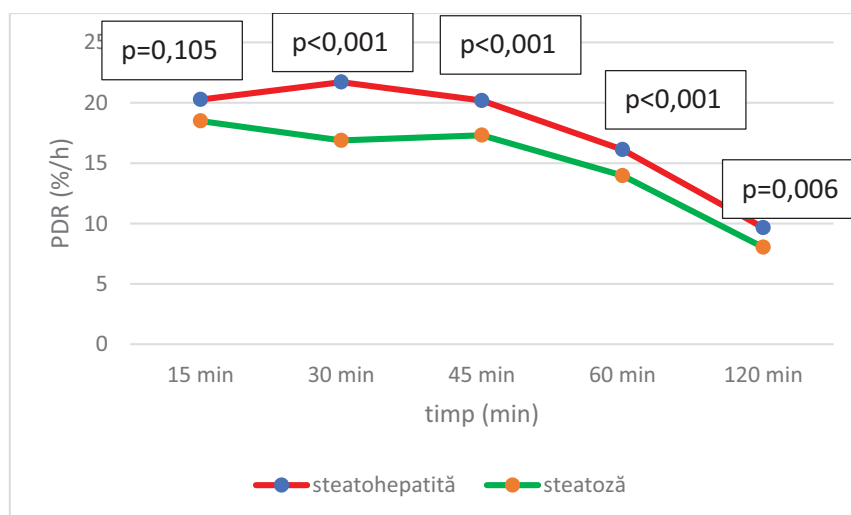
De asemenea, în studiul nostru media PCR la pacienții cu steatoză hepatică este semnificativ statistic ($p < 0,001$) mai mică față de media PCR în rândul pacienților cu steatohepatită.

În acest context, am evaluat rolul testului respirator cu acid octanoic (^{13}C -OBT) marcat cu C^{13} ca marker surrogat al disfuncției mitocondriale din steatohepatita non-alcoolice.

În cadrul studiului nostru, rezultatele au aratat că ^{13}C -OBT a avut o eficacitate bună în identificarea pacienților cu steatohepatită non-alcoolică din rândul celor cu ficat gras nonalcoolic.

Prin examinarea vitezei de metabolizare al acidului octanoic la diferite intervale de timp, pacienții cu steatohepatită non-alcoolică au avut o creștere semnificativă a ratei de expirare a $^{13}\text{CO}_2$ la (PDR) 30 min ($p < 0,001$), 60 min ($p < 0,001$), 45 min ($p < 0,001$) și 120 min ($p = 0,006$ la administrare) comparativ cu pacienții cu steatoză hepatică simplă. Rezultatele obținute sunt comparabile cu cele ale Fierbințeanu și colab [303]. la intervale de timp 30,45, 60 și 120 min; în studiul actual nu s-a evidențiat o diferență semnificativă statistic ($p = 0,105$) în ceea ce privește PDR la 15 min.

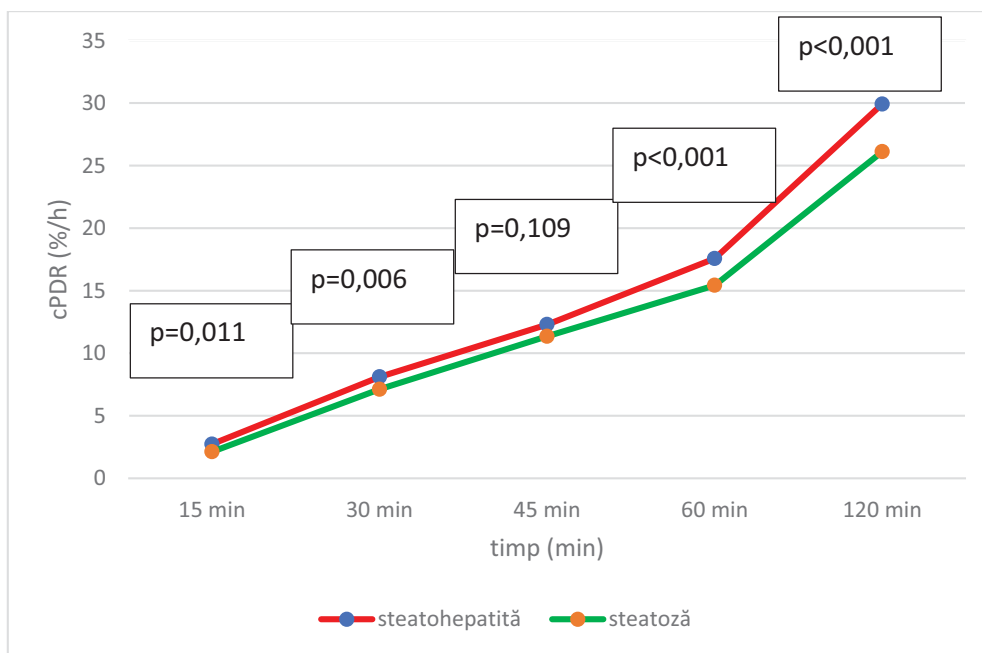
Grafic nr. 1. Măsurătorile PDR în funcție de grupul de studiu



În ceea ce privește capacitatea totală de de metabolizare a acidului octanoic, spre deosebire de pacienții cu steatoză hepatica simplă, pacienții cu steatohepatită au avut o capacitate mai mare de metabolizare a acidului octanoic, exprimată ca procent cumulate de recuperare a $^{13}\text{CO}_2$ în respirație (cPDR) la 15 min ($p = 0,011$), 30 min ($p = 0,006$), 60 min ($p < 0,001$) și 120 min ($p < 0,001$). Diferențe între pacienții cu steatoză hepatica simplă și cei cu steatohepatită non-alcoolică au

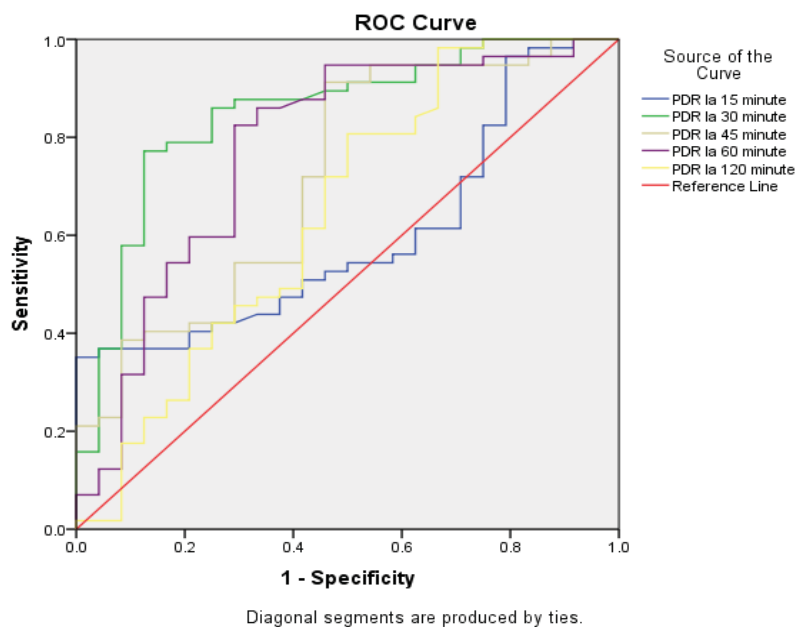
crescut odată cu punctele de timp, cea mai mare diferență fiind observată pentru cPDR la 120 min ($26,12 \pm 3,77\%$ vs. $29,92 \pm 3,72\%$). Curbele caracteristice privind viteza și capacitatea totală de metabolizare a acidului octanoic au permis diferențierea pacienților cu steatohepatită non-alcoolică de pacienții cu steatoză hepatică simplă.

Grafic nr. 2. Măsurătorile cPDR în funcție de grupul de studiu



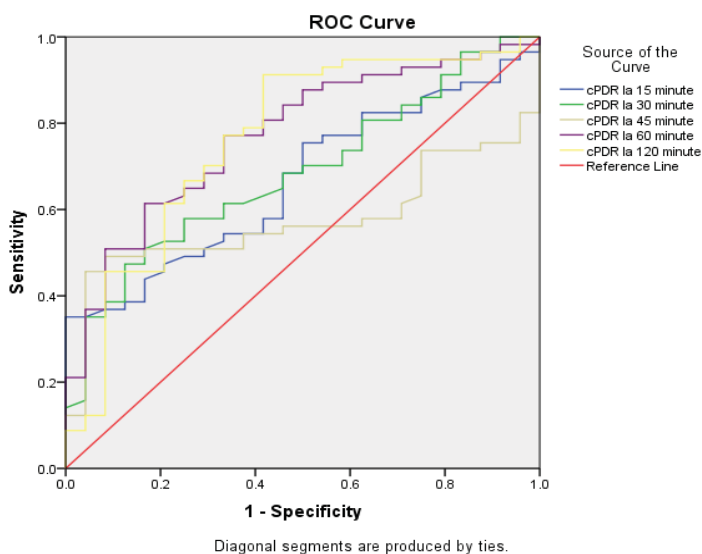
În vederea evaluării performanței OBT în diferențierea pacienților cu steatoză hepatică simplă și a celor cu steatohepatită non-alcoolică am studiat curba ROC. Cea mai bună putere de diagnostic a steatohepatitei nonalcoolice a fost dovedita de PDR la 30 min. cu valoare prag de 17,26%, AUC pentru acest parametru a înregistrat o valoare bună de 0,848, cu o sensibilitate de 87,7% și o specificitate de 70,8, valoarea predictivă pozitivă fiind de 87,7%, iar cea negativă de 70,8%.

Grafic nr. 3. Curba ROC pentru PDR 15, 30, 45, 60 și 120 min în Steatohepatita



Capacitatea totala de metabolizare sau doza cumulative (cPDR) a fost acceptabilă la 60 min și 120 min (AUC=0,772, respective 0,765), la valori prag de 15,72%, respectiv 24,45%. Valorile sensibilității au fost bune, 80,7% la 60 min și 94,7% la 120 min, însă valorile specificității au fost scăzute (58,3% la 60 min și 41,7% la 120 min).

Grafic nr. 4. Curba ROC pentru cPDR 15, 30, 45, 60 și 120 min în steatohepatita



Studiul de față are anumite limite. Numărul mic de pacienți a condus, în unele cazuri, la obținerea unor rezultate cu semnificație statistică, dar fără semnificație clinică, ceea ce nu exclude posibilitatea ca relevanța clinică să poată fi susținută de rezultatele obținute prin includerea în studiu a unui număr mai mare de pacienți.

10. Concluzii

1. Vârsta medie a pacienților cu steatohepatită non-alcoolică este semnificativ statistic ($p=0,002$) mai mare comparativ cu a celor cu steatoză hepatică simplă.
2. Diferențele de gen și de vârstă stau la baza variabilității bolii și a progresiei acesteia, așa încât caracteristicile demografice ale pacienților trebuie incluse în evaluarea riscului și determinarea prognosticului NAFLD.
3. Gradul de fibroză hepatică se corelează pozitiv semnificativ statistic cu vârsta pacienților ($p=0,012$) și activitatea inflamatorie ($p<0,001$), stadiul bolii hepatice fiind mai sever la vârste înaintate.
4. Gradul de fibroză hepatică diferă semnificativ ($p=0,033$) în funcție de sexul pacienților, bărbații având un stadiu mai avansat de fibroză hepatică.
5. În vederea determinării prognosticului bolii hepatice, stadializarea steatozei, activității inflamatorii și fibrozei hepatice, alături de caracteristicile demografice ale pacienților, stau la baza modelului de predicție al evoluției ficatului gras nonalcoolic.
6. Prevalența cumulată a obezității și supraponderalității -79% (52%, respectiv 27%) în rândul pacienților incluși în cercetare este superioară celei înregistrate în populația generală.
7. Indicele de masă corporală și circumferința abdominală sunt semnificativ mai mare la pacienții cu steatohepatită non-alcoolică comparativ cu cei cu steatoză simplă ($p=0,017$, respective $p=0,015$), iar indicii de masă corporală se corelează pozitiv ($p=0,004$) cu

activitatea inflamatorie iar circumferința abdominală cu gradul de steatoză hepatică ($p=0,001$).

8. Obezitatea, în special obezitatea viscerală, reprezintă unul dintre cei mai importanți factori de risc pentru steatohepatita non-alcoolică, circumferința abdominală ramane astfel cel mai simplu și utilizat mod de evaluare fiind un predictor independent al gradului de necroză și inflamație hepatică.
9. Diametrul longitudinal al splinei pacienților incluși în studiu s-a corelat pozitiv cu gradul activității inflamatorii ($p<0,001$) și cu gradul fibrozei hepatice ($p<0,001$), fiind semnificativ mai mare ($p<0,001$) în rândul pacienților cu steatohepatită non-alcoolică comparativ cu cei cu steatoză simplă.
10. Glicemia a jeun și indicele HOMA s-au corelat pozitiv semnificativ cu gradul de fibroză hepatică ($p=0,005$, respectiv $p<0,001$), indicele HOMA fiind semnificativ statistic mai mare în rândul pacienților cu steatohepatită non-alcoolică ($p=0,022$).
11. Valorile trigliceridelor serice au fost semnificativ mai mari la pacienții cu steatohepatită non-alcoolică ($p=0,049$), crescând semnificativ odată cu activitatea inflamatorie ($p=0,032$), cât și cu gradul de fibroză hepatică ($p=0,012$).
12. Studiul nostru confirmă etiologia multifactorială a ficatului gras nonalcoolic fiind implicați factori genetici și metabolici : obezitatea, rezistența la insulină, dislipidemia, diabetul zaharat tip 2 și bolile cardiovasculare.
13. Analiza curbelor ROC în vederea evaluării capacității profilului glicemic și lipidic de a detecta prezența steatohepatitei au relevat o performanță slabă, utilizarea testelor biologice de evaluare a profilelor glicemic și lipidic fiind insuficiente ca teste non-invasive pentru predicția steatohepatitei non-alcoolice.

14. GGT, ca marker al stresului oxidativ, alături de MDA și GSH s-a corelat pozitiv cu gradul de fibroză hepatică și activitatea inflamatorie ($p < 0,001$). PCR s-a corelat cu activitatea inflamatorie ($p < 0,001$) și cu gradul fibrozei hepatice ($p < 0,001$), fiind semnificativ mai mare la pacienții cu steatohepatită non-alcoolică ($p < 0,001$).
15. Utilizând curba ROC pentru studiul capacității PCR de a detecta prezența steatohepatitei, am înregistrat o valoare de 0,840 a AUC pentru PCR, fiind considerată foarte bună în ceea ce privește acuratețea utilizării PCR ca predictor pentru steatohepatită, cu o valoare a sensibilitatii de 66,7% și a specificității de 91,7%.
16. PCR reprezintă un predictor independent al steatozei hepatice, putând fi inclus în algoritm diagnosticul fenotipurilor NAFLD, PCR-ul poate diferenția steatohepatita de steatoza simplă, neprogresivă. Predicția progresiei NAFLD poate fi analizată pe baza markerilor inflamației, confirmând ipotezele anterioare privind rolul stresului oxidativ și al inflamației, alături de rezistența la insulină. în progresia bolii.
17. Testele respiratorii bazate un substrat marcat cu C13, cu metabolizarea bine definita a substratului la nivelul hepatocitelor, permit stabilirea disfuncției hepatice în contextul NAFLD.
18. Prin examinarea vitezei de metabolizare a acidului octanoic, pacienții cu steatohepatită non-alcoolică au avut o creștere semnificativă a concentrației $^{13}\text{CO}_2$ în aerul expirat, la intervalele de timp (PDR) 30 min ($p < 0,001$), 45 min ($p < 0,001$), 60 min ($p < 0,001$) și 120 min ($p = 0,006$) comparativ cu pacienții cu steatoză hepatică simplă.
19. În ceea ce privește capacitatea totală de metabolizare a acidului octanoic, pacienții cu steatohepatită au demonstrat o capacitate mai mare de metabolizare a acidului octanoic, exprimată ca procent cumulativ de recuperare a $^{13}\text{CO}_2$ în aerul expirat (cPDR) la 15 min ($p = 0,011$), 30 min ($p = 0,006$), 60 min ($p < 0,001$) și 120 min ($p < 0,001$). Diferențele între pacienții cu steatoză hepatică simplă și cei cu steatohepatită non-alcoolică au crescut

odată cu prelungirea intervalelor de timp de la administrarea substratului, cea mai mare diferență fiind observată pentru cPDR la 120 min ($26,12 \pm 3,77\%$ vs. $29,92 \pm 3,72\%$).

20. Utilizând curba ROC, s-a evidențiat că cea mai bună performanță pentru diagnosticul a steatohepatitei nonalcoolice a fost prezenta pentru PDR la 30 min; o valoare prag de 17,26%, AUC a fost 0,848, cu o sensibilitate de 87,7% și o specificitate de 70,8, valoarea predictivă pozitivă fiind de 87,7%, iar valoarea predictivă negativă de 70,8%.
21. În privința capacității totale de metabolizare a acidului octanoic (cPDR) cei mai buni parametri au fost cPDR la 60 min și la 120 min (AUC=0,772, respectiv 0,765), la valori prag de 15,72%, respectiv 24,45%; Valorile sensibilității au fost 80,7% la 60 min și 94,7% la 120 min, dar cu valori scăzute ale specificității (58,3% la 60 min și 41,7% la 120 min).
22. ^{13}C -OBT are o eficacitate bună în identificarea pacienților cu steatohepatită non-alcoolică din rândul pacienților cu NAFLD. Se remarcă o performanță bună a testului respirator cu acid octanoic în predicția a gradului crescut de steatoză hepatică, alături de o bună corelație a parametrilor PDR și cPDR și cu gradele de fibroză hepatică.
23. Testul respirator cu acid octanoic este un test de diagnostic neinvaziv, valoros care poate fi aplicat pe scară largă în NAFLD, pentru creșterea potențialului acestuia fiind nevoie de standardizarea performanțelor și a interpretării.
24. Toleranța bună, absența reacțiilor adverse, caracterul funcțional al explorării mitocondriale determină continuarea investigațiilor privind incorporarea sa în algoritmul diagnosticului neinvaziv al Steatohepatitei nonalcoolice, un deziderat încă neindeplinit în hepatologie

Contribuții personale

Obiectivul principal al prezentei teze de doctorat a fost de a evalua eficacitatea testului respirator cu 13C-Octanoat (OBT), ca marker surogat al funcției mitocondriale, în diferențierea pacienților cu NASH de pacienții cu steatoză simplă (NAFL). Astfel, am început cercetarea literaturii științifice și au apărut lucrările: “Rolul terapiei antioxidante în steatohepatita non-alcoolică”, “The Role of Noninvasive 13C- Octanoate Breath Test in Assessing the Diagnosis of Nonalcoholic Steatohepatitis”, unde, împreună cu colaboratorii mei, am sumarizat principalele relații fiziopatologice ale acestor afecțiuni, precum și noțiuni actuale despre management. În continuare, contribuția mea personală s-a materializat prin demonstrarea “Algoritmul non-invaziv pentru stratificarea riscului la pacienții cu ficat gras non-alcoolic” prin crearea unei metode de evaluare non invazive, un test respirator cu 13C Octanoat, care să poată înlocui pe viitor efectuarea biopsiei hepatice la acești pacienți.

Nu în ultimul rând, contribuția proprie a constat și în parcurgerea etapelor 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 de a descoperi noi strategii non-invazive care să permită evaluarea întregului spectru al NAFLD.

Abrevieri

MAFLD- ficat gras asociat disfuncțiilor metabolice;

NAFLD- ficat gras non-alcoolic;

NAFL -steatoză hepatică;

FL- ficat gras;

NASH – steatohepatită non-alcoolică;

ALD- boala hepatică alcoolică;

CH – ciroză hepatică;

HCC – hepatocarcinom;

IMC/BMI– indice de masă corporală;

ES – elastografia strain;

ESW – elastografia shear wave

m/s – metri per secundă

kPa - kilopascali

ET – elastografie tranzitorie

ARFI – elastografia cu unde acustice

ESW – 2D – elastografie shear wave 2D

RMN- rezonanță magnetică nucleară;

US- ultrasonografie;

CT- computer tomograf;

PTE-US- elastografie ultrasonografică în timp real;

CAP-parametru de atenuare controlată;

ROI – regiune de interes

ALT – alanin aminotransferază

AST – aspartat aminotransferază

GGT- gama glutamiltransferază

PLT- număr de trombocite

HDL – C – high density cholesterol

ANA- anticorpi antinucleari;

ASMA- anticorpi anti-mușchi netezi;

LKM- anticorp liver kidney;

FA- fosfataza alcalina;
CRP- proteina C reactiva
HOMA -IR - modelul homeostaziei pentru evaluarea rezistenței la insulină
IL-6 – interleukina 6
TNF- α – factorul de necroză tumoral α
IL-1 – interleukina 1
HBA1C - hemoglobina glicozilată
HIV – virusul imunodeficienței umane
IQR – intervalul intercvartilar
CRN- clinical reserch network;
FLIP- fatty liver inhibition of progression;
TNP- nutritie totala parenterala;
GLP-1- glucagon-like insulinotropic 1;
GLUT-4- translocarea transportului glucozei;
AGL- acizi grasi liberi;
H-MRS- proton magnetic resonance spectroscopy;
IMCL-continent de lipide intramiocelular;
G6P- glucoza 6 fosfat;
PPAR- α - receptorul α activat de proliferarea de peroxizomi;
AMPK- protein kinaza activata;
PNPLA3- patatin like phospholipase domain containing 3;
G CKR-n regulatorul glucokinazei;
G KRP- proteina de reglare a glucokinazei;
MBOAT7- gena umana ce codifica o proteina cu rol important in metabolismul lipidic;
FLS- fatty liver score;
FLI- fatty liver index;
MELD- model for end-stage liver disease;
TZD-thiazolidindione;
OCA- acid obeticolic;
UDCA- acid ursodeoxicolic;
OBT- testul respirator cu ^{13}C Octanoat;

BPOC-bronhopneumopatie cronica obstructiva;

SLD-diametrul longitudinal al splinei;

SR – rata de succes

ROC - receiver operating characteristic

AUROC – aria de sub curba ROC

OR – raportul de șanse (odds ratio)

VLDL – very low density lipoprotein

Bibliografie

1. Younossi, Z.M., 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*, 2022. **20**(10): p. 2296-2306 e6.
2. Bedossa, P., Histological Assessment of NAFLD. *Dig Dis Sci*, 2016. **61**(5): p. 1348-55.
3. Rich, N.E., et al., Racial and Ethnic Disparities in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Prevalence, Severity, and Outcomes in the United States: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018. **16**(2): p. 198-210 e2.
4. Mundi, M.S., et al., Evolution of NAFLD and Its Management. *Nutr Clin Pract*, 2020. **35**(1): p. 72-84.
5. Eslam, M., et al., MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, 2020. **158**(7): p. 1999-2014 e1.
6. Alswat, K., et al., Nonalcoholic fatty liver disease burden - Saudi Arabia and United Arab Emirates, 2017-2030. *Saudi J Gastroenterol*, 2018. **24**(4): p. 211-219.
7. Al Rifai, M., et al., The association of nonalcoholic fatty liver disease, obesity, and metabolic syndrome, with systemic inflammation and subclinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*, 2015. **239**(2): p. 629-33.
8. Tsai, E. and T.P. Lee, Diagnosis and Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis, Including Noninvasive Biomarkers and Transient Elastography. *Clin Liver Dis*, 2018. **22**(1): p. 73-92.
9. Arab, J.P., M. Arrese, and M. Trauner, Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annu Rev Pathol*, 2018. **13**: p. 321-350.
10. Tandra, S., et al., Presence and significance of microvesicular steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 2011. **55**(3): p. 654-659.
11. Anstee, Q.M. and C.P. Day, 26 - Epidemiology, Natural History, and Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease, in *Zakim and Boyer's Hepatology (Seventh Edition)*, A.J. Sanyal, et al., Editors. 2018, Elsevier: Philadelphia. p. 391-405.e3.
12. Younossi, Z., et al., Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018. **15**(1): p. 11-20.
13. Tesfay, M., W.J. Goldkamp, and B.A. Neuschwander-Tetri, NASH: The Emerging Most Common Form of Chronic Liver Disease. *Mo Med*, 2018. **115**(3): p. 225-229.
14. Sheka, A.C., et al., Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *JAMA*, 2020. **323**(12): p. 1175-1183.
15. Lim, J.K., The Role of Bariatric Surgery in the Management of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*, 2016. **12**(6): p. 397-9.
16. Bang, K.B. and Y.K. Cho, Comorbidities and Metabolic Derangement of NAFLD. *J Lifestyle Med*, 2015. **5**(1): p. 7-13.
17. Chakraborty, D. and J. Wang, Nonalcoholic fatty liver disease and colorectal cancer: Correlation and missing links. *Life Sci*, 2020. **262**: p. 118507.
18. Kichloo, A., et al., Association of non-alcoholic fatty liver disease with gallstone disease in the United States hospitalized patient population. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 2021. **12**(2): p. 14-24.
19. Campos-Murguia, A., et al., Clinical assessment and management of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2020. **26**(39): p. 5919-5943.
20. Liao, X.H., et al., Prevalence and features of fatty liver detected by physical examination in Guangzhou. *World J Gastroenterol*, 2013. **19**(32): p. 5334-9.

21. Pouwels, S., et al., Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *BMC Endocr Disord*, 2022. **22**(1): p. 63.
22. Geier, A. and J. Boursier, Non-invasive diagnosis of patients with 'at-risk' NAFLD : only fibrosis counts? *Gut*, 2020. **69**(7): p. 1164-1165.
23. Poynard, T., et al., The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comp Hepatol*, 2005. **4**: p. 10.
24. Theel, W., et al., Evaluation of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in severe obesity using noninvasive tests and imaging techniques. *Obes Rev*, 2022. **23**(8): p. e13481.
25. Ratziu, V., et al., Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*, 2006. **6**: p. 6.
26. Grundy S., Stone N., Bailey A., Beam C., Birtcher K., Blumenthal R. Guideline on the Management of Blood Cholesterol. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019;**73**:e285–e350. doi: 10.1016/j.jacc.2018.11.003.
27. Li, Q., et al., Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*, 2018. **10**(8): p. 530-542.
28. Ajmera, V. and R. Loomba, Imaging biomarkers of NAFLD, NASH, and fibrosis. *Mol Metab*, 2021. **50**: p. 101167.
29. Shrestha, R., et al., Estimation of Liver Fat by FibroScan in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cureus*, 2021. **13**(7): p. e16414.
30. Liu, H., et al., Acoustic Radiation Force Impulse Elastography for the Non-Invasive Evaluation of Hepatic Fibrosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Patients: A Systematic Review & Meta-Analysis. *PLoS One*, 2015. **10**(7): p. e0127782.
31. Nalbantoglu, I.L. and E.M. Brunt, Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2014. **20**(27): p. 9026-37.
32. Thampanitchawong, P. and T. Piratvisuth, Liver biopsy: complications and risk factors. *World J Gastroenterol*, 1999. **5**(4): p. 301-304.
33. Singh, V., et al., Resolution of NASH with weight loss documented by hepatic MRI. *BMJ Case Rep*, 2015. **2015**.
34. Ryan, D.H. and S.R. Yockey, Weight Loss and Improvement in Comorbidity: Differences at 5%, 10%, 15%, and Over. *Curr Obes Rep*, 2017. **6**(2): p. 187-194.
35. Hu, J., et al., Ursodeoxycholic acid ameliorates hepatic lipid metabolism in LO2 cells by regulating the AKT/mTOR/SREBP-1 signaling pathway. *World J Gastroenterol*, 2019. **25**(12): p. 1492-1501.
36. Buchwald, H., et al., Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 2004. **292**(14): p. 1724-37.
37. Cotter, T.G. and M. Charlton, Nonalcoholic Steatohepatitis After Liver Transplantation. *Liver Transpl*, 2020. **26**(1): p. 141-159.
38. El-Zayadi, A.R., Hepatic steatosis: a benign disease or a silent killer. *World J Gastroenterol*, 2008. **14**(26): p. 4120-6.
39. Rafiq, N., et al., Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2009. **7**(2): p. 234-8.
40. Fromenty, B.; Robin, M.A.; Igoudjil, A.; Mansouri, A.; Pessayre, D. The ins and outs of mitochondrial dysfunction in nash. *Diabetes Metab* 2004, **30**, 121-138. doi: 10.1016/S1262-3636(07)70098-8
41. Monroe, P.S.; Baker, A.L.; Schneider, J.F.; Krager, P.S.; Klein, P.D.; Schoeller, D. The aminopyrine breath test and serum bile acids reflect histologic severity in chronic hepatitis. *Hepatology* 1982, **2**, 317-322. doi: 10.1002/hep.1840020305

42. Miller VM, Rocca WA, Faubion SS. Sex Differences Research, Precision Medicine, and the Future of Women's Health. *J Womens Health (Larchmt)* 2015;24:969–971.
43. Singh DK, Sakhuja P, Malhotra V, Gondal R, Sarin SK. Independent predictors of steatohepatitis and fibrosis in asian indian patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci* 2008; 53:1967-1976.
44. Stranges S, Dorn JM, Muti P, et al. Body fat distribution, relative weight, and liver enzyme levels: a population- based study. *Hepatology* 2004;39:754-763
45. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, et al. Risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease and low visceral adiposity *J Hepatol* 2010 Nov 11
46. Park JW, Jeong G, Kim SJ, Kim MK, Park SM. Predictors reflecting the pathological severity of non-alcoholic fatty liver disease: comprehensive study of clinical and immunohistochemical findings in younger Asian patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 491–497.
47. Ratziu V, Bellentani, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatology* 2010; 53: 372–384.
48. 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

ANEXE

LISTA CU LUCRARILE STIINTIFICE PUBLICATE

Articole publicate in reviste de specialitate

- Din tematica tezei de doctorat

⇒ **Ana Calin-Necula**, V.Enciu, P. Ologeanu, A.C.Moldoveanu, Carmen Fierbinteanu-Braticevici.
The correlation between Body Mass Index and histological features of Nonalcoholic Fatty Liver Disease, ROM. J. INTERN. MED., 2023, 0, 0,1-15, DOI: 10.2478/rjim-2023-0011 **BDI**;
(Capitol IV-p.82,p106-113)

[http:// DOI: 10.2478/rjim-2023-0011](http://DOI: 10.2478/rjim-2023-0011)

⇒ Carmen Fierbinteanu-Braticevici, **Ana-Maria Calin-Necula**, V.T. Enciu, L. Goran, Anca Pantea Stoian , Ioan Ancuta, O. Viasu , A.C. Moldoveanu. The Role of Noninvasive 13C- Octanoate Breath Test in Assessing the Diagnosis of Nonalcoholic Steatohepatitis *Diagnostics* **2022**, 12, 2935. ISI-IF: **3,992** (Capitol III– p. 85-p.88)

<https://doi.org/10.3390/diagnostics12122935>

⇒ **Ana Calin-Necula**, A. Moldoveanu, R.Peagu, O. Viasu, R. Sararu, A. Petrisor, G. Oprea ,E. Sarbu, L.Tribus, R. Usvat, C.Fierbinteanu-Braticevici. Rolul terapiei antioxidante in steatohepatita non-alcoolica. Internal Medicine, vol.XIV no.5, 2017, pp.15-23 **BDI** (Capitol VIII -p.59-p.73).

<http://www.medicina-interna.ro/articol.php?articol=1002&lang=ro>

⇒ Carmen Fierbinteanu-Braticevici, V. T. Enciu, **Ana-Maria Calin-Necula**, I. R. Papacocea, A.C. Moldoveanu, A Comparison of ¹³C-Methacetin and ¹³C-Octanoate Breath Test for the Evaluation of Nonalcoholic Steatohepatitis, J Clin Med. 2023 Mar 10;12(6):2158. doi: 10.3390/jcm12062158. **ISI- IF: 4.964**
[http:// doi: 10.3390/jcm12062158](http://doi:10.3390/jcm12062158)

- **Articole cu alta tematica**

⇒ Elena Roxana Săraru, Răzvan Peagu, **Ana-Maria Călin- Necula**, Alexandru Moldoveanu, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Performances of Diagnostic Methods in Gastroesophageal Reflux Disease, Intern Med. 2019 Jun 6;16(1):41–50. ISSN: 1220-5818, doi:10.2478/inmed-2019-0051
<http://www.medicina-interna.ro/articol.php?articol=987&lang=ro>

⇒ Peagu R, Sararu R, **Necula A**, Moldoveanu A, Petrisor A, Fierbinteanu-Braticevici C. The role of spleen stiffness using ARFI in predicting esophageal varices in patients with Hepatitis B and C virus-related cirrhosis, Rom J Intern Med. 2019 Dec;57(4):334–40, ISSN : 2501- 062X,doi:10.2478/rjim-2019-0017
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31301679/>

⇒ Fierbinteanu- Braticevici C., Moldoveanu, Alexandru C., Tribus, Laura, Oprea, Gabriela, Chirila, Razvan, Marin, Andreea, **Necula, Ana**, The Development of a Non-Invasive Ultrasonographic Score to Assess Inflammatory Activity in Patients with Ulcerative Colitis Gastroenterology 2019, vol. 156 Iss. 6doi:10.1016/s0016-5085(19)39102-4;
[https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(19\)39102-4/pdf?referrer=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2F](https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(19)39102-4/pdf?referrer=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2F)

- ⇒ "Spleen Stiffness as Predictor of Esophageal Varices in Cirrhosis of Different Etiologies"
Carmen Fierbinteanu-Braticevici, Razvan Peagu, Andreea Marin, **Ana Necula**, Cristian Baicus, Alexandru Moldoveanu, World Journal of Gastroenterology, 2018 - <https://www.nature.com/articles/s41598-019-52407-y>
- ⇒ The role of 13C- octanoic acid breath test in the non-invasive diagnosis of nonalcoholic steatohepatitis (Original study) - Alexandru Moldoveanu, Radu Usvat, Laura Tribus, Ileana Stan, Răzvan Peagu, **Ana Necula**, Roxana Săraru, Carmen Fierbinteanu-Braticevici - Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases, vol.26, supplement 3, June 2017.
- ⇒ Adrian-Răzvan Peagu, **Ana Necula**, Alexandru Moldoveanu, Sorina Diaconu, Ana Petrișor, Carmen Fierbințeanu-Braticevici. Rolul elastografiei splenice cu unde acustice în prezicerea varicelor esofagiene la pacienții cu ciroză, Medicină Internă/ Internal Medicine, 2016. XIII(6) ISSN1220-5818. <http://www.medicina-interna.ro/articol.php?articol=987&lang=ro>

Lucrări prezentate la manifestări științifice organizate de asociații profesionale naționale și internaționale

- ⇒ Al. Moldoveanu, Roxana Săraru, **Ana Necula**, Gabriela Oprea, R. Ușvat, Eliza Sarbu, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Anomaliile profilului lipidic la pacienții cu boli inflamatorii intestinale. în Cel de-al 19- lea Congres Național de Medicină Internă., Călimănești-Căciulata, 2019
- ⇒ Al. Moldoveanu, **Ana Necula**, R. Peagu, Laura Tribus, Gabriela Oprea, M. Diculescu, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Rolul elastografiei ARFI în predicția zonelor de stenoza în bolile inflamatorii intestinale – Cel de-al 18-lea Congres Național de Medicină Internă., Călimănești- Căciulata, 2018

- ⇒ **Ana Necula**, Teodora Mănuc, Andreea Marin, Loredana Goran, Răzvan Peagu, Roxana Sararu, Cristina Grigore, Ovidiu Calapod Sesiunea tinerilor interniști (Prezentări de cazuri)/ Session of young internal medicine doctors (Clinical Cases), Actualități in gastroenterologie - editia a IV-a 2018
- ⇒ Adrian-Răzvan Peagu, **Ana Necula**, Alexandru Moldoveanu, Roxana Săraru, Ana Petrișor, Gabriela Oprea, Eliza Sârbu, Carmen Fierbințeanu, Noninvasive methods of diagnosing esophageal varices in patients with compensated cirrhosis . Al XXXVII-lea Congres National de Gastroenterologie, Hepatologie si Endoscopie Digestiva, Bucuresti 2017
- ⇒ Carmen Georgeta Fierbinteanu-Braticevici, Alexandru C. Moldoveanu, Razvan Chirila, Laura Tribus, Razvan Peagu, **Ana Necula**, Sorina Diaconu, Gabriela Oprea The Role of Noninvasive Breath Tests with 13C-Methacetin and 13C-Octanoate in Assessing the Diagnosis and Severity of Nonalcoholic Steatohepatitis, , DDW (Digestive Disease Week) annual meeting 2017. McCormick Place, Chicago, Illinois, USA
- ⇒ A. Peagu, **Ana Necula**, Al. Moldoveanu, Andreea Marin, Laura Tribus, Carmen Fierbinteanu-Braticevici Diagnosticul ne-invaziv al varicelor esofagiene din ciroza, Al XVII-lea Congres National de Medicină Internă, Călimănești-Căciulata 2017
- ⇒ A. Moldoveanu, **Ana Necula**, R. Peagu, Sorina Diaconu, M. Diculescu, Carmen Fierbințeanu- Braticevici Rolul elastografiei ARFI în monitorizarea bolilor inflamatorii intestinale, Al XVII-lea Congres National de Medicină Internă, Călimănești-Căciulata 2017

- ⇒ **Ana-Maria Călin-Necula**, R. Peagu, Al.Moldoveanu, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Debut biologic inaparent al adenocarcinomului ductal pancreatic, Al XVII-lea Congres National de Medicină Internă, Călimănești-Căciulata 2017
- ⇒ Alexandru Moldoveanu, **Ana Necula**, Teodora Mănuc, Mihai Stanca, Andreea Marin, Loredana Goran, Răzvan Peagu, Roxana Sararu, Nicoleta Sandu, Olisea Zabulica, Ana Maria Palan Sesiunea tinerilor interniști (Prezentări de cazuri)/ Session of young internal medicine doctors (Clinical Cases), Actualități în gastroenterologie - editia a III-a 2017
- ⇒ **Ana Necula**, Al. Moldoveanu, O. Viașu, R. Ușvat, Irina Stoica, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Boala Crohn - o formă particulară de evoluție. in The XVIth National Congress of Internal Medicine., Călimănești-Căciulata, 2016
- ⇒ Laura Tribus, Ana Petrișor, **Ana Necula**, Al. Moldoveanu, Gabriela Oprea, Eliza Sârbu, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Factorii non-invazivi de predicție ai hipertensiunii portale la pacienții cirofici. in The XVIth National Congress of Internal Medicine., Călimănești-Căciulata, 2016
- ⇒ Al. Moldoveanu, O. Viașu, **Ana Necula**, Ana Petrișor, Gabriela Oprea, Eliza Sârbu, Radu Ușvat, Laura Tribus, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Rolul tratamentului antioxidant în ameliorarea disfuncției mitocondriale la pacienții cu hepatopatie grasă non-alcoolică (NAFLD). in The XVIth National Congress of Internal Medicine., Călimănești-Căciulata, Romania, 2016
- ⇒ O. Viașu, Al. Moldoveanu, Irina Stoica, **Ana Necula**, Ana Petrișor, Laura Tribus, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Rolul testului respirator cu acid octanoic în diagnosticul non-invaziv al steatohepatiei non-alcoolice. in The XVIth National Congress of Internal Medicine., Călimănești-Căciulata, Romania, 2016

- ⇒ Mihai Stănică, Ion Dina, **Ana-Maria Necula**, Carmen Georgeta Fierbințeanu-Braticevici Incidence of gastrointestinal lesions in patients with dual antiplatelet therapy having an upper digestive bleeding episode. - Journal of Gastroenterology and Liver Diseases, Supplement 2, Vol 25, 2016 - Al XXXVI – lea Congres Național de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă, Cluj-Napoca 8-10.06.2016 ISSN 2457-3876
- ⇒ Ana-Cristina Hodină, Alexandru Moldoveanu, Laura Tribus, **Ana Necula**, Eliza Sârbu, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Are frequent pulmonary complications in cirrhosis? in The XXXVth National Congress of Gastroenterology, Hepatology and Digestive Tract Endoscopy., Iași, 2015
- ⇒ Carmen Fierbineanu Braticevici, Cristina Hodină, Ana Petrior, Alexandru Moldoveanu, Adina Purcăreanu, Lucian Negreanu, **Ana Necula** Rolul metodelor neinvazive în stratificarea riscului pacienților cu hepatopatie grasă nealcoolică. in The XXXIVth National Congress of Gastroenterology, Hepatology and Digestive Endoscopy., Oradea, Romania, 2014

Postere

- ⇒ **Ana-Maria Călin-Necula**, Razvan Peagu, Roxana Săraru, Alexandru Moldoveanu, Carmen Fierbinteanu-Braticevici Capcane diagnostice ale hemoragiei digestive - - Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases, volume 27, supplement 2, May 2018.
- ⇒ Elena- Roxana Săraru, Razvan Peagu, **Ana Călin-Necula**, Alexandru Moldoveanu , Carmen Fierbinteanu-Braticevici The hidden pathology behind hypergastrinemia (Case report) - Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases, volume 27, supplement 2, May 2018.

- ⇒ Razvan Peagu, Elena- Roxana Săraru, **Ana Călin-Necula**, Alexandru Moldoveanu, Carmen Fierbinteanu-Braticevici The role of spleen stiffness in thrombocytopenia - Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases, volume 27, supplement 2, May 2018
- ⇒ Alexandru Moldoveanu, Radu Ușvat, Laura Tribus, Ileana Stan, Răzvan Peagu, **Ana Necula**, Roxana Săraru, Mircea Diculescu, Carmen Fierbințeanu-Braticevici The role of ARFI elastography in predicting the evolution of inflammatory bowel disease, Al XXXVII-lea Congres National de Gastroenterologie, Hepatologie si Endoscopie Digestiva, Bucuresti 2017
- ⇒ Carmen Elena Plaișanu, Andreea Marin, Alexandru Constantin Moldoveanu, **Ana Necula**, Irina Stoica, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Corticosteroid Therapy in Patients with Alcoholic Hepatitis - Risk or Benefit? in The XXXVIth National Congres of Gastroenterology, Hepatology and Digestive Tract Endoscopy., Cluj-Napoca, Bucharest, 2016
- ⇒ Ana Petrișor, Alexandru Constantin Moldoveanu, **Ana Necula**, Laura Tribus, Gabriela Oprea, Carmen Fierbințeanu-Braticevici The role of 13C-Sodium Octanoate Breath Test in evaluating patients with non-alcoholic steatohepatitis receiving antioxidant therapy. in The XXXVIth National Congres of Gastroenterology, Hepatology and Digestive Tract Endoscopy., Cluj-Napoca, Romania, 2016
- ⇒ Alexandru Constantin Moldoveanu, Ana Petrișor, Laura Tribus, **Ana Necula**, Radu Ușvat, Eliza Sârbu, Carmen Fierbințeanu-Braticevici Should patients with gastroesophageal reflux disease be monitored with pH and impedance monitoring rather than endoscopy? in The XXXVIth National Congres of Gastroenterology, Hepatology and Digestive Tract Endoscopy., Cluj-Napoca, Romania, 2016
- ⇒ Alexandru Moldoveanu, **Ana Necula**, Octav Viașu, Laura Tribus, Ana Petrișor, Carmen Fierbințeanu-Braticevici, Crowne The Therapeutic Role of Antioxidants As An Associated Therapy in Alcoholic Hepatitis. in 3rd UpDate on Hepatology. Plaza, Bucharest, 2016