

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN
CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**



**TEZĂ DE DOCTORAT
-REZUMAT-**

***Factori de prognostic și intervenții terapeutice în ficatul gras
non-alcoolic***

Conducător de doctorat

Prof. Univ. Dr. DOINA CÂRSTEA

Student- doctorand,

RAMONA TEODORESCU

CRAIOVA

2013



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSONELOR VÂRSTNICE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



UNIVERSITATEA
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
DIN CRAIOVA

Investește în oameni !
FONDUL SOCIAL EUROPEAN
Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 – 2013

Axa prioritară 1
„Educația și formarea profesională în sprijinul creșterii economice și dezvoltării
societății bazate pe cunoaștere”

Domeniul major de intervenție 1.5
„Programe doctorale și postdoctorale în sprijinul cercetării”

Titlul proiectului
"Creșterea calității și vizibilității rezultatelor cercetării științifice a
doctoranzilor cu frecvență prin acordarea de burse doctorale"

Contract nr: POSDRU/107/1.5/S/82705

Beneficiar
Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova

CUPRINS

Introducere.....	4
Partea generală.....	5
Contribuții proprii.....	6
• Material și metodă	
• Rezultate și discuții	
• Concluzii	
Bibliografie selectivă.....	12

Cuvinte cheie

Ficat gras non-alcoolic (NAFLD), steatohepatită (NASH), biopsie hepatică, atorvastatină, losartan, pentoxifilină, acid ursodeoxicolic

INTRODUCERE

Ficatul gras non-alcoolic - Non-Alcoholic Fatty Liver Disease(NAFLD) este definit în literatura anglo-saxonă ca referindu-se la spectrul afecțiunilor hepatice produse în absența consumului de alcool în cantități ce ar putea produce injurii hepatice și a altor cauze evidente de boală hepatică . Spectrul patologiei hepatice este alcătuit din: gradele steatozei simple, ciroza hepatică, steatohepatita non – alcoolică și ficatul gras non-alcoolic - cauza principala a așa – numitei “ciroze criptogenice”.

Impactul ficatului gras non-alcoolic din punct de vedere biologic, epidemiologic, patogenetic și socio-economic este legat strâns de dislipidemie, obezitate și diabet zaharat tip 2. Prevalența reală și incidența ficatului gras non-alcoolic nu sunt cunoscute pe deplin, dar datele existente până azi indică o rapidă creștere a prevalenței afecțiunii în paralel cu creșterea dramatică a populației suferind de diabet zaharat și obezitate.

Diagnosticul ficatului gras non-alcoolic este în general întâmplător, cu ocazia efectuării unor explorări biologice de rutină, când se constată valori crescute ale transaminazelor, sau în urma efectuării ecografiei transabdominale.

Multipli agenți farmaceutici au fost folosiți pentru managementul ficatului gras non-alcoolic. Totuși, majoritatea trialurilor au fost de durată prea scurtă pentru a determina impactul asupra rezultatelor clinice importante (de exemplu ciroză decompensată), raportând mai degrabă rezultate parțiale, cum ar fi nivelele de transaminaze serice sau observații histologice, adesea cu rezultate contradictorii.

Scopul ideal al tratamentului este rezoluția leziunilor histologice demonstrată prin PBH cu diminuarea implicită a riscului de evoluție spre ciroză hepatică. În condiții uzuale se consideră ca rezultat acceptabil al tratamentului diminuarea infiltrării grase hepatice demonstrată prin explorări neinvazive și normalizarea transaminazelor.

Alte scopuri acceptate ale tratamentului sunt normalizarea IMC, a colesterolului total și a trigliceridelor serice. Calitatea vieții și cost-eficiența sunt de asemenea alte elemente care trebuie considerate în tratamentul NAFLD/NASH.

PARTEA GENERALĂ

Primul capitol din partea generală, intitulat *DEFINIȚIA FICATULUI GRAS NON-ALCOOLIC*, trece în revistă terminologia utilizată pentru leziunile hepatice care caracterizează ficatul gras non-alcoolic, steatoză, steatohepatită și fibroza hepatică, precum și ultimele criterii de diagnostic pentru sindromul metabolic.

În capitolul II, *EPIDEMIOLOGIE ȘI ETIOPATOGENEZĂ*, sunt prezentate datele actuale privind incidența și prevalența ficatului gras non-alcoolic, date legate de factorii de risc și principalele condiții clinice asociate cu apariția ficatului gras non-alcoolic. Prevalența reală și incidența ficatului gras non-alcoolic nu sunt cunoscute în totalitate, dar datele existente până în prezent indică o rapidă creștere a prevalenței afecțiunii în paralel cu creșterea dramatică a populației suferind de diabet zaharat și obezitate. În ciuda diferitelor condiții ce pot să determine apariția NAFLD, precum anumite medicamente (estrogeni, glucocorticoizi, metotrexat, tamoxifen, diltiazem, amiodaronă), intervențiile chirurgicale gastro-intestinale, nutriția parenterală, boala inflamatorie intestinală, termenul de NAFLD este în prezent rezervat pentru apariția sa în cadrul unor patologii metabolice cu modificări histologice nedefinite. Principalii factori de risc asociați cu ficatul gras non-alcoolic sunt reprezentați de prezența obezității, a diabetului zaharat și a sindromului metabolic, având insulinorezistența ca mecanism patogenetic principal. Tot în acest capitol sunt trecute în revistă principalele mecanisme patogenice care duc la apariția și la evoluția leziunilor de steatoză hepatică până la stadiul de fibroză. Capitolul se încheie cu date legate de implicarea factorilor genetici în dezvoltarea ficatului gras non-alcoolic.

În capitolele III și IV, *DIAGNOSTIC CLINIC* și *DIAGNOSTIC PARACLINIC* sunt prezentate principalele manifestări clinice ale pacienților cu ficat gras non-alcoolic, precum și principalele modificări imagistice și biologice care susțin diagnosticul de steatoză hepatică non-alcoolică.

Capitolul V, *DIAGNOSTIC HISTOLOGIC* cuprinde date privind caracteristicile anatomopatologice ale leziunilor de steatoză, steatohepatită și fibroză, precum și sistemele actuale de clasificare și de evaluare a stadiului și gradului bolii la pacienții cu ficat gras non-alcoolic.

Ultimul capitol al părții generale, *MANAGEMENTUL FICATULUI GRAS NON-ALCOOLIC*, urmărește principalele metode terapeutice utilizate în prezent pentru tratamentul ficatului gras non-alcoolic, insistând pe importanța terapiilor farmacologice.

CONTRIBUȚII PROPRII

Material și metodă

Studiul de tip prospectiv desfășurat în cadrul Clinicii de Medicina Interna a Spitalului Clinic Municipal Filantropia, din Craiova. în perioada octombrie 2010 – decembrie 2012 a cuprins patru loturi, cu un număr semnificativ de pacienți (n=202), la care steatoza hepatică non-alcoolică a fost confirmată prin examen histopatologic și pe care am realizat analiza comparativă a influenței unor agenți terapeutici (acid ursodeoxicolic (compus cu proprietăți citoprotective, imunomodulatoare și antiapoptotice), losartan (agent de blocare a sistemului renină-angiotensina), pentoxifilina (inhibitor TNF α), atorvastatina (inhibitor HMGCoa reductaza) asupra evoluției ficatului gras non-alcoolic. Durata medie de administrare a tratamentului a fost de aproximativ 30 de săptămâni. Subiecții incluși în studiu au fost monitorizați pe parcursul tratamentului la 10, respectiv 20 de săptămâni.

Pentru includerea subiecților în loturile de studiu au fost elaborate criteriile de includere și excludere.

Studiul histologic a presupus prelucrarea probelor de țesut recoltate după puncția biopsie în scopul de a calcula scorul de activitate a bolii (NAS) definit ca suma între gradul steatozei (0-3), al inflamației (0-3) și al balonizării (0-2).

Studiul clinic a urmărit stabilirea unor date demografice, antropometrice, antecedente heredocolaterale, personale fiziologice și patologice ale subiecților incluși în loturile de studiu.

Studiul biochimic a presupus determinarea unor parametri sanguini care să permită evaluarea metabolismului glucidic, lipidic, funcției hepatice, stresului oxidativ.

Analiza statistică a rezultatelor obținute

Pentru prelucrarea datelor s-au folosit programul MedCalc v.11.01 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgia) și programul Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond,

WA, USA), împreună cu suita XLSTAT pentru MS Excel (Addinsoft SARL, Paris, Franța). Informațiile obținute au fost stocate în fișiere Microsoft Excel, fiind apoi prelucrate statistic, în vederea analizării relațiilor dintre datele clinice și paraclinice ale pacienților.

Rezultate și discuții

Pe parcursul desfășurării primei etape a cercetării au fost înrolați 202 subiecți cu leziuni de steatoză hepatică având confirmare histologică. Din cei 202 subiecți, 120 bărbați (59.41%) și 82 femei (40.59%). Valorile indicelui de masă corporală la subiecții incluși în studiu au fost cuprinse între 18,10 și 52,80 valoarea medie fiind de 28,26.

Majoritatea pacienților incluși în acest studiu au prezentat unul sau mai mulți factori de risc pentru ficatul gras non-alcoolic. Astfel, 26,73% au îndeplinit criteriile de diagnostic pentru sindromul metabolic și 39,10% au avut diabet zaharat tip 2.

Am realizat evaluarea comparativă a pacienților din cele patru loturi și identificarea diferențelor ce se observa în raport cu tratamentul administrat. Rezultatele controlului clinic și biologic al subiecților sunt prezentate la momentul T0, corespunzător evaluării cu 24 de ore anterior începerii tratamentului și la momentele T1, T2 și respectiv, T3, aferente intervalului de 10, 20 și respectiv, 30 de săptămâni după începerea tratamentului.

În urma efectuării explorărilor clinice și paraclinice la cei 202 pacienți incluși în studiu, valorile tensiunii sistolice respectiv tensiunii diastolice pentru lotul subiecților hipertensivi sunt mult mai mari decât pentru celelalte loturi ($T_s = 169.66 \pm 12.10$, $T_d = 91.19 \pm 8.11$, în momentul inițierii terapiei), valorile tensiunii diastolice pentru lotul subiecților dislipidemici fiind asemanatoare cu cele ale lotului non-HTA, iar în cazul lotului pacienților dislipidemici se observă chiar o ușoară tendință de creștere.

Din punct de vedere paraclinic nu s-au observat diferențe semnificative între variațiile înregistrate pe cele patru loturi de pacienți pentru hemoglobină între începutul și sfârșitul tratamentului, valoarea medie a acesteia menținându-se în limite normale pe toată durata administrării tratamentului.

S-au constatat modificări ale profilului lipidic, glucidic și ale funcției hepatice pe care le-am raportat la datele existente în literatură. Rezultatele noastre sunt în concordanță cu o serie de alte trialuri.

Pe scurt, toate cele 4 medicamente au condus la scăderi semnificative ale valorilor ALT și GGT, dintre care atorvastatina a produs și scăderi semnificative ale nivelelor fosfatazei alcaline, colesterolului total și trigliceridelor. Așa cum am subliniat anterior, contribuția reducerii IMC la ameliorările biochimice nu a fost atât de importantă, cel puțin nu în cazul specific al acestui studiu, dar, cu siguranță, alte investigații sunt necesare pentru stabilirea acestui fapt.

Pe de altă parte, evaluarea histologică a evidențiat ameliorări semnificative a 2 din 3 sau 4 componente ale scorului NAS doar pentru pacienții tratați cu atorvastatină, losartan și pentoxifilina, în timp ce la pacienții la care s-a administrat UDCA nu s-au observat ameliorări semnificative din punct de vedere statistic.

Din punct de vedere histologic, cazurile studiate au prezentat valori medii ale scorului de activitate a bolii cuprinse între 4,13 și 4,26 pentru pacienții hipertensivi respectiv pacienții cu dislipidemie și o valoare medie sub 4 pentru celelalte două loturi.

În ceea ce privește pacienții cu dislipidemie, am obținut o valoare $p=0,00007 < 0,001$, deci am identificat o diferență înalt semnificativă între scorurile NAS inițiale și finale. Pentru pacienții din lotul fără dislipidemie cărora li s-a administrat pentoxiflină, valoarea fost mai mică, iar $p=0,04073 < 0,05$, deci în acest caz avem doar o diferență semnificativă, spre deosebire de lotul pacienților hipertensivi unde am obținut o valoare a $p=0,00004 < 0,001$, ceea ce indică o diferență înalt semnificativă din punct de vedere statistic.

Pentoxifilina a provocat o scădere rapidă și importantă a nivelelor de ALT (82.60 ± 12.82 la 76.90 ± 6.83 , $p=0,001$) și GGT (55.27 ± 17.55 la 49.95 ± 8.95 , $p=0,004$) după 10 săptămâni de tratament, iar acest efect a rămas stabil pe întreaga perioadă de desfășurare a studiului.

Prin ameliorarea scorurilor biochimice și histologice la pacienții hipertensivi cu NAFLD, losartanul s-a dovedit un agent valoros pentru acest grup. În ceea ce privește modificările metabolismului lipidic losartanul a îmbunătățit semnificativ valorile colesterolului (274.75 ± 27.76 la 262.32 ± 30.88 , $p= 0,0036$), HDL colesterolului (161.41

± 24.83 la 155.92 ± 19.21 , $p=0,0031$) și trigliceridelor (241.71 ± 65.39 la 231.17 ± 45.96 , $p=0,0021$). Evaluarea funcției hepatice la pacienții tratați cu losartan a evidențiat scăderea semnificativă a valorilor AST (79.63 ± 17.09 la 75.96 ± 9.85 , $p=0,01$), o scădere înalt semnificativă pentru valorile ALT (77.93 ± 19.58 la 72.00 ± 11.50 , $p=0,007$) în timp ce valorile GGT au scăzut dar ne semnificativ din punct de vedere statistic.

Acidul ursodeoxicolic s-a testat la pacienții cu NASH datorită unor anumite efecte antiapoptotice și imunomodulatoare care nu sunt legate în totalitate de scăderea nivelului acizilor endogeni hidrofobi din bilă.

Studiul nostru arată că, la comparația cu nivelul de bază, după 30 de săptămâni de tratament, UDCA duce la ameliorări semnificative ale nivelelor AST (88.79 ± 14.60 la 84.44 ± 7.17 , $p=0,006$), ALT (81.78 ± 15.12 la 75.07 ± 6.52 , $p=0,003$), GGT (57.48 ± 18.77 la 57.48 ± 18.77 , $p=0,001$) precum și la îmbunătățirea anumitor trăsături histologice.

Concluzii

Ficatul gras non-alcoolic reprezintă o cauză majoră de morbiditate iar riscul apariției acestei afecțiuni crește proporțional cu creșterea indicelui de masă corporală. Incidența ficatului gras non-alcoolic este în continuă creștere datorită creșterii prevalenței obezității în societatea modernă.

Studiul nostru, desfășurat în cadrul Clinicii de Medicina Interna a Spitalului Clinic Municipal Filantropia, din Craiova în perioada octombrie 2010 – decembrie 2012, a cuprins patru loturi, cu un număr semnificativ de pacienți, pe care am realizat analiza influenței unor agenți terapeutici asupra evoluției patologiei ficatului gras non-alcoolic.

Concluziile directe rezultate din cercetarea noastră se pot rezuma astfel:

- 1. Incidența maximă a steatozei hepatice non-alcoolice s-a situat în decada a V a de vârstă în timp ce repartiția pe sexe a pacienților din cele patru loturi de studiu a demonstrat o prevalență mai mare a bolii la bărbați decât la femei (59.41%).*
- 2. Majoritatea pacienților incluși în acest studiu au prezentat unul sau mai mulți factori de risc pentru apariția ficatului gras non-alcoolic, 26,73% au îndeplinit criteriile de diagnostic pentru sindromul metabolic și 39,10% au avut diabet zaharat tip 2.*

3. *În studiul de față, valoarea medie a indicelui de masă corporală la pacienții cu steatoză hepatică a fost de 28,26 cu valori mai ridicate pentru pacienții dislipidemici și hipertensivi.*
4. *Din punct de vedere histologic la momentul inițierii terapiei, cazurile studiate au prezentat valori medii ale scorului de activitate a bolii cuprinse între 4,13 și 4,26 pentru pacienții hipertensivi respectiv pacienții cu dislipidemie și o valoare medie sub 4 pentru celelalte două loturi.*
5. *În momentul finalizării studiului valorile medii ale scorului de activitate a bolii au fost cuprinse între 2,87 respectiv 2,93 pentru pacienții hipertensivi și pacienții cu dislipidemie în timp ce pentru celelalte două loturi scorul NAS a avut o valoare medie sub 3.*
6. *Toate cele patru medicamente administrate au condus la scăderi semnificative ale valorilor ALT și GGT.*
7. *Atorvastatinul a produs și scăderi înalt semnificative ale nivelelor fosfatazei alcaline ($p < 0.0001$), colesterolului total ($p < 0.0001$) și trigliceridelor ($p < 0.0001$). Evaluarea histologică a evidențiat ameliorări semnificative a 2 din 3 sau 4 componente NAS doar pentru pacienții tratați cu atorvastatină, losartan și pentoxifilină, în timp ce la pacienții la care s-a administrat UDCA nu s-au observat ameliorări semnificative din punct de vedere statistic.*
8. *Gradul fibrozei nu s-a modificat în nici unul din cele patru loturi, și doar steatoza pare să fi beneficiat de administrarea pentoxifilinei, losartanului sau atorvastatinei.*
9. *Utilizarea pentoxifilinei este bine tolerată, îmbunătățește valorile transaminazelor și ameliorează scorurile histologice la pacienții cu NAFLD. Pentoxifilina a provocat o scădere rapidă și importantă a nivelelor de ALT ($p=0,001$) și GGT ($p=0,004$) după 10 săptămâni de tratament, iar acest efect a rămas stabil pe întreaga perioadă de desfășurare a studiului.*
10. *Prin ameliorarea scorurilor biochimice și histologice la pacienții hipertensivi cu NAFLD, losartanul s-a dovedit un agent valoros pentru acest lot. În ceea ce privește modificările metabolismului lipidic losartanul a îmbunătățit semnificativ valorile colesterolului ($p=0,0036$), HDL colesterolului ($p=0,0031$) și trigliceridelor ($p=0,0021$). Evaluarea funcției hepatice la pacienții tratați cu losartan a evidențiat scăderea semnificativă a valorilor*

AST (p=0,01), o scădere înalt semnificativă pentru valorile ALT (p=0,007) în timp ce valorile GGT au scăzut dar ne semnificativ din punct de vedere statistic.

11. Administrarea acidului ursodeoxicolic la pacienții cu NAFLD a condus la ameliorări semnificative ale nivelelor AST (p=0,006), ALT (p=0,003), GGT (p=0,001) precum și a unor trăsături histologice. Deși au fost observate anumite beneficii prin reducerea nivelelor transaminazelor și chiar dacă proprietățile hepatoprotectoare justifică folosirea sa în numeroase patologii hepatice cronice, folosirea de rutină a UDCA în tratamentul NAFLD rămâne încă în cercetare datorită absenței unor efecte consistente asupra histologiei hepatice.

Bibliografie selectivă

- Erickson S. Nonalcoholic fatty liver disease. *J Lipid Res* 2009; 50:S412-416
- Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Systematic Review: The Diagnosis and Staging of Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Non-alcoholic Steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33(5):525-540
- De Alwis NMW, Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: The mist gradually clears. *J Hepatol* 2008; 48:S104-112
- Lomonaco R, Chen J, Cusi K. An endocrine perspective of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ther Adv in Endo and Metab* 2011; 2(5):211-225
- Brunt E.M, David E. Kleiner, Laura A. Wilson, Patricia Belt, Brent A. Neuschwander-Tetri; for the NASH Clinical Research Network (CRN) Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Activity Score and the Histopathologic Diagnosis in NAFLD: Distinct Clinicopathologic Meanings *Hepatology* 2011; 53:810-820
- Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 362:1675.
- Ersöz G, Günşar F, Karasu Z, et al. Management of fatty liver disease with vitamin E and C compared to ursodeoxycholic acid treatment. *Turk J Gastroenterol* 2005; 16:124.
- Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology* 1996; 23:1464
- Leuschner UF, Lindenthal B, Herrmann G, et al. High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology* 2010; 52:472.
- Eugen Florin Georgescu, Reanina Ionescu, Mihaela Niculescu, Laurentiu Mogoanta, Liliana Vancica .Angiotensin-receptor blockers as therapy for mild-to-moderate hypertension-associated non-alcoholic steatohepatitis, *World J Gastroenterol*. 2009 February 28; 15(8): 942–954
- Zhoy Q., Liao J.K., Pleiotropic effects of statins. Basic research and clinical perspectives. *Circ J* 2010,74(5): 818–26
- Foster T, Budoff MJ, Saab S, et al. Atorvastatin and antioxidants for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: the St Francis Heart Study randomized clinical trial. *Am J Gastroenterol* 2011; 106:71.

- Satapathy SK, Sakhuja P, Malhotra V, et al. Beneficial effects of pentoxifylline on hepatic steatosis, fibrosis and necroinflammation in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22:634.
- Van Wagner LB, Koppe SW, Brunt EM, et al. Pentoxifylline for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a randomized controlled trial. *Ann Hepatol* 2011; 10:277.
- Gomez-Dominguez E., Gisbert J., Moreno-Monteagudo J., Garcia-Buey L., Moreno-Otero R. (2006) A pilot study of atorvastatin treatment in dyslipemid, non-alcoholic fatty liver patients, *Aliment Pharmacol Ther* 23:698–699.
- Georgescu EF, Georgescu M. Therapeutic options in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). Are all agents alike? Results of a preliminary study. *J Gastrointestin Liver Dis* 2007; 16:39.
- Adams LA, Zein CO, Angulo P, Lindor KD. A pilot trial of pentoxifylline in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99:2365.
- Tanaka N, Sano K, Horiuchi A, et al. Highly purified eicosapentaenoic acid treatment improves nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42:413.
- Lewis J., Mortensen M., Zweig S., Fusco M., Medoff J., Belder R. (2007) Efficacy and safety of high-dose pravastatin in hypercholesterolemic patients with well-compensated chronic liver disease: results of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial, *Hepatology* 46:1453–1463.