



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



TEZĂ DE DOCTORAT
METODE ACTUALE PENTRU
EVALUAREA STEATOZEI HEPATICE
- REZUMAT -

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

PROF. UNIV. DR. DAN IONUȚ GHEONEA

STUDENT - DOCTORAND:

BECHERU (LĂPĂDAT) ALINA-MARIA

Craiova

2020

CUPRINS

1. Introducere.....	3
2. Stadiul actual al cunoașterii	3
3. Contribuții proprii	5
4. Concluzii.....	12

Cuvinte cheie: boala ficatului gras non-alcoolic, ficat gras non-alcoolic, steatohepatita non-alcoolică, biopsie hepatică, spectroscopie prin rezonanță magnetică

1. Introducere

Boala ficatului gras non-alcoolic (BFGNA) reprezintă acumularea ectopică de grăsime la nivelul parenchimului hepatic ce nu se datorează consumului exagerat de etanol. Incidența BFGNA a crescut rapid în ultimele decenii, devenind una dintre cele mai frecvente cauze de afectare cronică a ficatului. Acest lucru se datorează, în principal, creșterii globale a valorilor incidenței și prevalenței obezității datorită unui consum crescut de carbohidrați și lipide, precum și datorită unui stil de viață predominant sedentar.

Termenul de BFGNA cuprinde un spectru larg de patologii hepatice cu evoluție și posibilități terapeutice variate și se asociază, de regulă, cu dislipidemie, hipertensiune arterială, obezitate, rezistență la insulină/diabet zaharat tip 2 – un grup de afecțiuni cronice ce constituie sindromul metabolic și reprezintă indicatori ai unui risc cardiovascular crescut.

2. Stadiul actual al cunoașterii

La momentul actual, nu se cunoaște cu exactitate valoarea reală a prevalenței globale a BFGNA, întrucât există o variabilitate marcată (3% – 45%) între estimările furnizate de diverse studii datorată, în principal, diferențelor de etnie, de regim alimentar, precum și de sensibilitate în ceea ce privește mijloacele de diagnostic (nivel seric al enzimelor hepatice, investigații imagistice, biopsie hepatică). În momentul de față, standardul de aur pentru diagnosticarea și evaluarea cantitativă a BFGNA este reprezentat de biopsia hepatică. Însă, principalul dezavantaj al acestei tehnici îl constituie caracterul invaziv. Datele de actualitate din literatură indică posibilitatea utilizării spectroscopiei prin rezonanță magnetică (SRM) drept alternativă non-invazivă, capabilă să cuantifice nivelul de trigliceride acumulate la nivelul parenchimului hepatic.

BFGNA se dezvoltă cel mai frecvent la subiecții de origine hispanică. În populația asiatică, prevalența BFGNA este în continuă creștere și, nu de puține ori, boala poate fi decelată în rândul persoanelor cu valori normale ale indicelui de masă corporală (IMC).

Dieta, în special cea bogată în grăsimi, a fost și este considerată în continuare un factor de risc independent în dezvoltarea BFGNA. Dietele adoptate frecvent în țările vestice, bogate în carne roșie, produse de patiserie, cereale rafinate și băuturi îndulcite cu zahăr se asociază frecvent cu un risc crescut de dezvoltare a sindromului metabolic și, implicit, a BFGNA.

Inițial, s-a crezut că steatoza hepatică simplă, denumită și ficatul gras non-alcoolic (FGNA) prezintă o evoluție benignă ce asociază riscuri minime de sechele. Conform acestei teorii, steatohepatita non-alcoolică (SHNA) este singura formă de boală relevantă din punct de vedere clinic. Informațiile de actualitate din literatura de specialitate pun la îndoială acest aspect și indică prezența unei faze dinamice inițiale în care parenchimul hepatic oscilează între cele două afecțiuni: FGNA și SHNA.

Subiecții care prezintă BFGNA sunt, de regulă, asimptomatici. Nu de puține ori, boala este depistată prin intermediul unui nivel crescut de enzime hepatice sau cu ajutorul mijloacelor de diagnostic imagistic efectuate cu ocazia unui control de rutină. În principal, BFGNA se ia în calcul la pacienții care prezintă niveluri persistent crescute de alaninaminotransferază (ALT) și de aspartataminotransferază (AST) însoțite de prezența steatozei hepatice decelate prin tehnici imagistice precum ultrasonografie (US) sau computer tomografie (CT), în absența consumului de alcool și de medicamente, precum și în absența markerilor de hepatită virală. Un aspect important de precizat este reprezentat de faptul că pacienții cu SHNA care au dezvoltat ciroză hepatică prezintă niveluri scăzute de ALT și AST. Astfel, existența SHNA nu poate fi exclusă în condițiile unor valori normale ale ALT în cazul pacienților cu fibroză hepatică avansată.

De regulă, pacienții cu BFGNA prezintă un raport AST/ALT mai mic de 1. Însă, pe măsură ce boala avansează și leziunile de fibroză devin tot mai pronunțate, se instalează ciroza hepatică în care se înregistrează o scădere a valorilor ALT și, respectiv, o creștere a valorilor AST, astfel încât raportul AST/ALT se inversează și are valori mai mari de 1. Este important de menționat faptul că valorile AST pot depăși de cel puțin două ori valorile ALT în cazul steatozei hepatice determinate de consumul excesiv de alcool.

Stadializarea steatozei hepatice se realizează în funcție de procentul de celule hepatocitare afectate:

- *gradul 0*: sub 5% din celulele hepatocitare sunt afectate;
- *gradul I*: între 5-33% din celulele hepatocitare sunt afectate;
- *gradul II*: între 34-66% din celulele hepatocitare sunt afectate;
- *gradul III*: peste 66% din celulele hepatocitare sunt afectate.

Biopsia hepatică permite examinarea parenchimului hepatic în vederea evaluării activității inflamatorii de boală, dar și a progresiei leziunilor de fibroză către ciroză hepatică. În cazul pacienților cu BFGNA, afectarea hepatică este difuză, neuniformă (în grade variabile). În acest fel, valoarea finală a procentului de steatoză hepatică este obținută prin calcularea mediei aritmetice a tuturor procentelor individuale obținute prin biopsie hepatică din locații diferite.

Majoritatea măsurilor terapeutice aplicabile în cazul pacienților cu BFGNA vizează schimbarea stilului de viață și a regimului alimentar.

3. Contribuții proprii

La momentul începerii studiului prezentat în lucrarea de față, mi-am stabilit ca principal obiectiv să evaluez eficiența SRM în diagnosticarea și stadializarea BFGNA prin raportarea rezultatelor obținute de această metodă imagistică la cele furnizate de biopsia hepatică. De asemenea, numeroși parametri serici vor fi

studiați în rândul acestor pacienți. Astfel, evidențierea unor asocieri semnificative din punct de vedere statistic între gradul BFGNA și parametrii evaluați constituie o importantă componentă a studiului de față, întrucât consider că posibilele conexiuni dintre acești factori pot influența semnificativ modalitatea de diagnostic a BFGNA și pot contribui la identificarea populației la risc în rândul acestor pacienți.

În cea de-a doua parte a studiului, am optat pentru evaluarea eficienței unui set bine stabilit de măsuri terapeutice prin examinarea unui lot diferit de pacienți cu ajutorul SRM la momentul includerii în studiu și la finalizarea recomandărilor prevăzute în programul terapeutic. Astfel, consider că studiul prezentat în detaliu în lucrarea de față va prezenta importante implicații și în gestionarea terapeutică a pacienților cu BFGNA.

Pentru o desfășurare corespunzătoare a activității de cercetare, studiul a debutat cu obținerea avizului din partea Comisiei de Etică a Universității de Medicină și Farmacie din Craiova. Toți subiecții incluși și prezentați în lucrarea de față și-au exprimat consimțământul cu privire la participarea la studiu.

Studiul s-a desfășurat prospectiv în perioada 2017-2020 și a inclus un număr de 73 de pacienți repartizați în două loturi după cum urmează:

- lotul I: 38 pacienți;
- lotul II: 35 pacienți.

Lotul I de studiu (alcătuit din 38 de pacienți) este reprezentat de subiecții la care s-a evaluat utilitatea SRM (metodă non-invazivă) în diagnosticul și stadializarea BFGNA. Persoanele incluse în acest lot de studiu au fost internate în cadrul Clinicii de Gastroenterologie și, respectiv, în cadrul Clinicii de Chirurgie II ale Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova. Investigațiile imagistice de înaltă performanță de tipul SRM s-au desfășurat în cadrul Departamentului de Imagistică al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova. De asemenea, prelevările de material biptic de la nivelul parenchimului hepatic s-au realizat în cadrul Clinicii de Chirurgie II a Spitalului Clinic Județean

de Urgență Craiova. Probele histopatologice au fost evaluate ulterior în cadrul Centrului pentru Studii de Morfologie Microscopică și Imunologie al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova. Datorită faptului că steatoza hepatică afectează structura ficatului într-o manieră difuză și heterogenă, în grade variabile, este important de precizat faptul că biopsia hepatică s-a realizat la nivelul lobului drept hepatic dintr-un număr variabil de locații (minim trei).

Pe întreaga perioadă de desfășurare a studiului, Centrul pentru Studii de Morfologie Microscopică și Imunologie al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova a beneficiat de un microscop performant marca NIKON 90i. Lamele obținute din probele prelevate prin biopsie hepatică au fost colorate cu hematoxilină-eozină și, ulterior, au fost examinate digital prin intermediul aplicației Image-Pro Plus versiunea 7 dezvoltată de Media Cybernetics, SUA. Astfel, după rularea acestui software, am încărcat individual fiecare imagine obținută din materialul bioptic prelevat. Ulterior, zonele de grăsime din imaginile încărcate au fost marcate și delimitate de restul țesutului. Procentul de grăsime a fost calculat prin raportarea suprafeței ocupate de țesutul gras din fiecare imagine la întreaga suprafață a imaginii. Procentul final de grăsime a fost calculat prin calcularea mediei aritmetice a tuturor valorilor obținute la pacientul respectiv. În rândul pacienților incluși în lotul I de studiu, am folosit următorul formular pentru a stabili parametrii de interes:

- vârsta;
- sexul;
- fracția de grăsime (FG) obținută prin biopsie hepatică;
- gradul de BFGNA indicat de biopsia hepatică;
- FG obținută prin SRM;
- gradul de BFGNA indicat de SRM;
- valorile serice ale trigliceridelor;
- valorile serice ale colesterolului total;
- valorile serice ale transaminazelor (ALT, AST);

- valorile glicemiei a jeun;
- prezența/absența diabetului zaharat;
- valorile IMC;
- gradul IMC.

Lotul II de studiu (alcătuit din 35 de pacienți) este reprezentat de subiecții cu BFGNA, la care s-a evaluat eficiența măsurilor terapeutice prin intermediul SRM. Persoanele incluse în acest lot de studiu au fost internate în cadrul Clinicii de Gastroenterologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova. Investigațiile imagistice de înaltă performanță de tipul SRM s-au realizat în cadrul Departamentului de Imagistică al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova atât la momentul includerii în lotul II de studiu, cât și la momentul finalizării protocolului terapeutic. Tratamentul aplicat pacienților din lotul II de studiu s-a realizat pe durata a 6 luni și a inclus un supliment alimentar hepatoprotector în asociere cu schimbarea dietei și a stilului de viață. În rândul pacienților incluși în lotul II de studiu, am folosit următorul formular pentru a stabili parametrii de interes:

- vârsta;
- sexul;
- FG obținută spectroscopic la momentul includerii în studiu;
- gradul de BFGNA indicat spectroscopic la momentul includerii în studiu;
- FG obținută spectroscopic la momentul finalizării tratamentului;
- gradul de BFGNA indicat spectroscopic la momentul finalizării tratamentului;
- a scăzut gradul de BFGNA ?;
- cu cât a scăzut FG ?.

Caracteristicile tuturor pacienților incluși în lotul I de studiu sunt prezentate în funcție de gradul de BFGNA în *Tabelul 1*.

Parametrul investigat (valoarea medie±DS)		Gradul 0	Gradul I	Gradul II
Vârsta (ani)	T	59±6,20	45,70±8,57	56,06±9,85
	B	57,33±3,21	46,58±9,60	52,90±10,08
	F	61,50±10,60	43,60±5,68	61,33±7,42
FG indicată de biopsia hepatică (%)	T	3±1	22,88±7,12	48,93±10,25
	B	3±1	22,25±6,86	45,50±10,27
	F	3±1,41	24,4±8,32	54,66±7,89
FG indicată de MRS (%)	T	3,6±0,54	23±6,95	49,93±9,58
	B	3,33±0,57	22,41±6,84	46,80±9,87
	F	4±0	24,4±7,82	55,16±6,88
Trigliceridele serice (mg/dl)	T	155,2±3,96	210,47±43,09	296,37±29,72
	B	152,66±2,51	210,41±48,23	286,50±27,80
	F	159±1,41	210,6±32,08	312,83±27,17
Colesterolul seric total (mg/dl)	T	265,80±29,54	255,35±75,57	252,37±60,23
	B	257,33±38,42	242,91±65,76	266,50±61,47
	F	278,5±0,7	285,2±96,81	228,83±54,95
ALT serică (U/l)	T	31,60±2,60	49,05±15,38	50,12±18,51
	B	32,66±2,30	46,91±15,35	50,90±19,73
	F	30±2,82	54,2±15,84	48,83±17,98
AST serică (U/l)	T	29±2,34	41,47±11,97	42,81±15,62
	B	30,33±2,08	39,25±11,74	43,90±15,84
	F	27±0	46,80±12	41±16,56
Glucoza serică (mg/dl)	T	99,6±3,04	111,41±36,23	131,62±35,15
	B	98,66±3,78	116,25±39,43	131,30±35,16
	F	101±1,41	99,80±27,10	132,16±38,49

IMC (kg/m²)	T	25,2±2,38	32±4,96	35,50±4,83
	B	26,33±2,51	31,58±4,83	35±5,53
	F	23,50±0,70	33±5,70	36,33±3,66

Tabelul 1. Prezentarea valorilor medii±deviația standard (DS) obținute ale parametrilor investigați în rândul pacienților incluși în lotul I de studiu în funcție de gradul de BFGNA. T – Total, B – Bărbați, F – Femei

În rândul pacienților incluși în lotul I de studiu, am evaluat prezența unor posibile asocieri semnificative din punct de vedere statistic între următorii parametri:

- între gradul de BFGNA indicat de biopsia hepatică și gradul de BFGNA indicat de SRM (p<0,001);
- între gradul de BFGNA (biopsie hepatică/SRM) și nivelul seric de trigliceride (p<0,001);
- între gradul de BFGNA (biopsie hepatică/SRM) și IMC (p<0,001);
- între gradul de BFGNA (biopsie hepatică/SRM) și nivelul colesterolului seric total (p=0,461);
- între gradul de BFGNA (biopsie hepatică/SRM) și nivelul seric de ALT (p=0,430);
- între gradul de BFGNA (biopsie hepatică/SRM) și nivelul seric de AST (p=0,346).

Repartizarea pacienților incluși în lotul II de studiu în funcție de gradul de BFGNA la momentul includerii în studiu și la momentul încheierii tratamentului este prezentată în *Tabelul 2*.

Măsurile terapeutice aplicate pacienților din lotul II de studiu au determinat reducerea conținutului de grăsime de la nivelul celulelor hepatocitare la 24 pacienți (68,57%), în timp ce la restul de 11 pacienți s-a înregistrat o creștere a cantității intrahepatice de țesut adipos.

Numărul de pacienți		Gradul 0	Gradul I	Gradul II	Gradul III
La momentul includerii în studiu	T	0	9	23	3
	B	0	9	15	1
	F	0	0	8	2
La momentul încheierii tratamentului	T	0	17	18	0
	B	0	11	14	0
	F	0	6	4	0

Tabelul 2. Repartiția tuturor pacienților incluși în lotul II de studiu, indiferent de sex, în funcție de gradul de BFGNA atât la momentul includerii în studiu, cât și la momentul încheierii tratamentului. T – Total, B – Bărbați, F – Femei

În lotul II de studiu, scăderea FG s-a realizat, în medie, cu 13,49%(±7,24%), înregistrându-se valori cuprinse între 4,15% și 27,96%. În rândul bărbaților, scăderea FG s-a realizat, în medie, cu 15,96%(±7,48%), înregistrându-se valori cuprinse între 6,01% și 27,96%. În rândul femeilor, scăderea FG s-a realizat, în medie, cu 10,02%(±5,52%), înregistrându-se valori cuprinse între 4,15% și 18,55%.

În lotul I de studiu, reticența pacienților față de biopsia hepatică a constituit principala limitare. Aceasta s-a datorat, în principal, caracterului invaziv al tehnicii, dar și disconfortului creat în timpul procedurii. Principala consecință a acestui aspect a fost includerea unui număr mai mic de pacienți, dar suficient în opinia mea pentru a ilustra acuratețea SRM în diagnosticarea și stadializarea BFGNA ca și alternativă non-invazivă la biopsia hepatică.

În cel de-al doilea lot de studiu, principalii factori care au limitat includerea unui număr mai mare de pacienți au fost, în principal, durata crescută a tratamentului (șase luni) și complianța scăzută la tratament.

4. Concluzii

– Studiul de față a evidențiat prezența unei asocieri semnificative din punct de vedere statistic între gradul de BFGNA indicat de biopsia hepatică și gradul de BFGNA indicat de SRM ($p < 0,001$);

– Studiul de față a evidențiat prezența unei asocieri semnificative din punct de vedere statistic între gradul de BFGNA (biopsie hepatică/SRM) și nivelul seric de trigliceride ($p < 0,001$);

– Studiul de față a evidențiat prezența unei asocieri semnificative din punct de vedere statistic între gradul de BFGNA (biopsie hepatică/SRM) și IMC ($p < 0,001$);

– Ca medie de vârstă, toți pacienții încadrați în gradul 0 de BFGNA au prezentat cele mai mari valori. De asemenea, în rândul subiecților de sex feminin, valorile vârstei medii au fost similare între cei diagnosticați cu gradul 0 de BFGNA și cei diagnosticați cu gradul II de BFGNA și semnificativ mai mari decât cele înregistrate în cazul celor diagnosticați cu gradul I de BFGNA;

– Valoarea medie a FG indicată atât de biopsia hepatică, cât și de SRM se situează în jurul valorii de 3% în rândul subiecților diagnosticați cu gradul 0 de BFGNA, în jurul valorii de 22% în rândul pacienților diagnosticați cu gradul I de BFGNA și în jurul valorii de 46% în rândul persoanelor diagnosticate cu gradul II de BFGNA;

– Dacă ne raportăm la valorile serice medii ale trigliceridelor, se observă o relație de directă proporționalitate cu gradul de BFGNA. Această tendință nu se regăsește însă și în cazul valorilor medii ale colesterolului seric total;

– Valorile serice medii ale ALT și AST au înregistrat o creștere importantă între grupul de pacienți diagnosticați cu gradul 0 de BFGNA și cel de subiecți diagnosticați cu gradul I de BFGNA. Însă, în grupul de pacienți diagnosticați cu gradul I de BFGNA și în grupul de subiecți diagnosticați cu gradul II de BFGNA

valorile serice medii ale acestor parametri au prezentat valori relativ similare, fără o variabilitate marcată. Această tendință se regăsește doar în cazul subiecților de sex masculin, însă nu și în cazul pacienților de sex feminin;

– Dacă ne raportăm la valorile serice medii ale glucozei, se observă o relație de directă proporționalitate cu gradul de BFGNA, cel mai probabil în asociere cu incidența crescută a diabetului zaharat odată cu creșterea gradului de BFGNA. Această tendință se regăsește doar în cazul subiecților de sex masculin, însă nu și în cazul pacienților de sex feminin;

– Dacă ne raportăm la valorile medii ale IMC, se observă o relație de directă proporționalitate cu gradul de BFGNA, atât în cazul pacienților de sex masculin, cât și în cazul celor de sex feminin;

– Se remarcă o eficiență net superioară a măsurilor terapeutice în rândul femeilor comparativ cu bărbații reflectată, în primul rând, de diferența dintre valorile medii înregistrate la momentul includerii în studiu și valorile medii înregistrate la momentul încheierii măsurilor terapeutice. Astfel, valoarea medie a FG a scăzut cu 3,26% la bărbați și cu 11,89% la femei;

– Deși conținutul de grăsime de la nivelul celulelor hepatocitare a scăzut la 24 dintre pacienți (peste două treimi), scăderea gradului de BFGNA s-a înregistrat la 16 pacienți (45,71%). Explicația acestui fenomen constă în faptul că, deși s-a înregistrat o scădere a FG, această scădere nu a fost suficientă să determine scăderea gradului de BFGNA.