
REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT

Predicția răspunsului la tratamentul cu corticosteroizi la pacienții cu hepatită alcoolică severă

Doctorand: **Adelina HORHAT**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Zeno-Adrian Spârchez**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

INTRODUCERE.....	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	5
1. Boala hepatică indusă de alcool	7
1.1. Definiție	7
1.2. Epidemiologie	7
1.3. Fiziopatologia bolii hepatice induse de alcool	8
1.4. Hepatita alcoolică severă – fiziopatologie.....	11
2. Factori implicați în patogeneza hepatitei alcoolice severe	15
2.1. Factori genetici.....	15
2.2. Factori epigenetici.....	16
2.3. Microbiota intestinală și metabolismul acizilor biliari.....	17
3. Modele prognostice în hepatita alcoolică severă.....	19
3.1. Modele tradiționale de prognostic.....	19
3.2. Modele emergente și noi biomarkeri.....	26
4. Strategii terapeutice în hepatita alcoolică severă.....	28
4.1. Suport general	28
4.2. Terapia farmacologică în hepatita alcoolică severă	31
4.3. Transplantul hepatic în hepatita alcoolică severă.....	33
4.4. Abordare integrată a tulburării legate de consumul de alcool și a bolii hepatice	35

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	38
5. Scop și obiective	41
6. Studiul 1. Markeri non-invazivi în diferențierea cirozei hepatice alcoolice decompensate și hepatita alcoolică severă	42
6.1. Introducere	42
6.2. Obiective.....	42
6.3. Material și metodă	43
6.4. Rezultate	46
6.5. Discuții.....	66
6.6. Concluzii.....	68
7. Studiul 2. Asocierea polimorfismelor uninucleotidice cu susceptibilitatea la infecții la pacienții cu hepatită alcoolică severă.....	69
7.1. Introducere	69
7.2. Obiective.....	70
7.3. Material și metodă	70
7.4. Rezultate	72
7.5. Discuții.....	78
7.6. Concluzii.....	79
8. Studiul 3. Evaluarea biomarkerilor imagistici ca factori prognostici în hepatita alcoolică severă.....	81
8.1. Introducere	81
8.2. Obiective.....	82
8.3. Material și metodă	82

8.4. Rezultate	84
8.5. Discuții	94
8.6. Concluzii	96
9. Concluzii generale	99
10. Originalitatea și contribuțiile inovative ale cercetării doctorale	101
REFERINȚE.....	103

Cuvinte cheie: Hepatită alcoolică severă, biomarkeri non-invazivi, metabolomică, polimorfisme uninucleotidice, imagistică hepatică

LISTA DE PUBLICAȚII

Articole publicate *in extenso* ca rezultat al cercetării doctorale

1. **Horhat A**, Bureau C, Thabut D, Rudler M. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in patients with cirrhosis: Indications and posttransjugular intrahepatic portosystemic shunt complications in 2020. *United European Gastroenterol J*. 2021 Mar;9(2):203-208. doi: 10.1177/2050640620952637. Epub 2021 Feb 23. PMID: 32819214; PMCID: PMC8259430. Factor de impact 5.8/Q1. (studiu cuprins în capitolul 1).
2. **Horhat A**, Fischer P, Nicoara-Farcu O, Rusu I, Morar C, Bumbu A, Ignat M, Procopet B, Socaciu C, Spârchez Z, Ștefănescu H. Enhanced diagnosis and prognosis of severe alcoholic hepatitis using novel metabolomic biomarkers. *Alcohol Alcohol*. 2023 Jul 10;58(4):366-374. doi: 10.1093/alcalc/agad034. PMID: 37154612. Factor de impact 2.1/Q2. (studiu cuprins în capitolul 6).
3. **Horhat A**, Coada CA, Ignat MD, Fischer P, Procopet B, Stefanescu H, Sparchez Z. Association of Single Nucleotide Polymorphisms with Infection Susceptibility in Patients with Severe Alcoholic Hepatitis. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2025 Aug 22. doi: 10.15403/jgld-6214. Epub ahead of print. PMID: 40843503. Acceptat – în curs de editare. Factor de impact 2.1/Q3. studiu cuprins în capitolul 7).

INTRODUCERE

Această teză de doctorat a fost realizată în cadrul Școlii Doctorale a Universității de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” din Cluj-Napoca, sub îndrumarea Prof. Dr. Zeno-Adrian Spârchez. Lucrarea se concentrează asupra hepatitei alcoolice severe (HAS), caracterizată prin mortalitate ridicată și opțiuni terapeutice limitate. Astfel, predicția răspunsului la tratament devine esențială pentru ghidarea deciziilor clinice.

Prin urmare, această lucrare propune o abordare integrativă, combinând analiza metabolomică, genotiparea unor polimorfisme genetice și evaluarea markerilor imagistici, cu scopul de a identifica factori predictivi ai răspunsului la corticosteroizi și de a îmbunătăți stratificarea riscului la pacienții cu HAS. În primul studiu, analiza metabolomică a permis diferențierea între HAS și ciroza alcoolică decompensată, identificând metaboliți asociați cu mortalitatea precoce. Raportul PGE2/S1P < 1.03 a demonstrat o capacitate excelentă de discriminare, având o arie sub curbă de 0.965 (P < 0.001), cu 90% sensibilitate și 100% specificitate. De asemenea, supraviețuirea a fost semnificativ mai redusă la pacienții cu niveluri scăzute de oleamidă/acid ursodeoxicolic.

În al doilea studiu, polimorfismul CD14 rs5744455CT s-a asociat cu un risc crescut de infecții, indicând rolul susceptibilității genetice în răspunsul terapeutic.

Cel de-al treilea studiu a evidențiat biomarkeri predictivi ai mortalității precum tulburările de perfuzie hepatică și volumul hepatic.

Prin integrarea acestor dimensiuni – moleculară, genetică și imagistică – teza contribuie la fundamentarea unui model de evaluare personalizată a pacienților cu hepatită alcoolică severă, cu potențial de aplicabilitate în practica clinică modernă.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Boala hepatică indusă de alcool (BHA) reprezintă o problemă de sănătate publică aflată în continuă creștere. Diagnosticul standard al HAS necesită biopsie hepatică, o procedură rar disponibilă, invazivă asociată cu riscuri. Prin urmare, identificarea unor markeri non-invazivi capabili să distingă între aceste două afecțiuni poate ameliora gestionarea pacienților, facilitând un diagnostic rapid și reducând necesitatea investigațiilor invazive.

Deoarece metabolomică permite o abordare holistică și detaliată a profilului metabolic al pacienților, aceasta poate facilita stabilirea unui diagnostic rapid și minim invaziv, monitorizarea evoluției și facilitarea detecției precoce a complicațiilor, precum infecțiile în contextul HAS. Polimorfismele genelor TNF α , CD14 și TLR4 sunt asociate cu un risc crescut de infecție, un răspuns modificat la corticosteroizi și o mortalitate crescută la pacienții cu HAS. Mai precis, anumite variante genetice ale acestor gene ar

putea modula activitatea inflamației sistemice, susceptibilitatea la infecții și răspunsul terapeutic, influențând astfel prognosticul pacienților și rata mortalității. De exemplu, CD14 este implicată semnificativ în disfuncția hepatică asociată sepsisului, contribuind la accentuarea leziunilor hepatice și la o evoluție clinică mai severă.

În completarea abordării multimodale a hepatitei alcoolice severe, imagistica avansată prin tomografie computerizată (CT) joacă un rol esențial în evaluarea gradului de afectare hepatică. Aceasta completează examinarea clinică, permițând o stratificare mai precisă a riscului. De exemplu, studiile au evidențiat o corelație semnificativă între raportul volumului splină/ficat determinat prin CT și gradul hipertensiunii portale, precum și severitatea bolii.

Integrarea acestor instrumente multidimensionale ar putea optimiza modelele predictive actuale.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Studiul 1: Markeri non-invazivi în diferențierea cirozei hepatice alcoolice decompensate și hepatita alcoolică severă

Scop / Obiective: Scopul acestui studiu este de a utiliza metabolomica pentru a identifica biomarkeri non-invazivi potențiali pentru diagnosticul diferențial între HAS și ciroza alcoolică decompensată (CAD), în prezența sau absența infecției, și pentru a prezice mortalitatea pe termen scurt.

Material și metode: Au fost incluși pacienți consecutivi cu HAS și CAD, confirmați prin biopsie, care au fost gestionati conform ghidurilor actuale și urmăriti până la finalul studiului. Metabolomica netintită a fost evaluată la toți pacienții la momentul inițial. Ulterior, au fost efectuate analize specifice pentru identificarea unor biomarkeri potențiali, care au fost analizați semi-cantitativ în raport cu indicatori clinici relevanți.

Rezultate: Trezeci și patru de pacienți cu HAS și 37 cu CAD au fost incluși în studiu. Analiza UHPLC-MS a identificat 83 de molecule cu potențial diferențiator între HAS și CAD. Cea mai crescută concentrație a fost observată pentru C16-Sfinganină-1P (S1P), în timp ce Prostaglandina E2 (PGE2) a fost cea mai scăzută. Raportul PGE2/S1P < 1,03 a discriminat excelent între HAS și CAD, cu o AUC de 0,965 ($p < 0,001$), sensibilitate 90%, specificitate 100%, valoare predictivă pozitivă (VPP) 0,91, valoare predictivă negativă (VPN) 1 și acuratețe diagnostică de 95%. Acest raport nu este influențat de prezența infecției (AUC 0,967 vs. 0,962), se corelează negativ cu scorul Lille la 7 zile ($r = -0,60$; $p = 0,022$) și tinde să fie mai scăzut la pacienții neresponsivi la corticosteroizi comparativ cu cei responsivi [$0,85(\pm 0,02)$ vs. $0,89(\pm 0,05)$, $p = 0,069$]. În plus, nivelurile scăzute de acid ursodeoxicolic s-au corelat cu scorurile MELD și Maddrey și au prezis mortalitatea cu o acuratețe de 77,27% (VPN = 100%).

Concluzii: Acest studiu sugerează că raportul scăzut dintre PGE2 (scăzută) și S1P (crescută) poate reprezenta un biomarker util pentru diferențierea între HAS și CAD. De asemenea, rezultatele indică faptul că nivelurile reduse de acid ursodeoxicolic pot prezice un risc crescut de mortalitate la pacienții cu HAS.

Studiu 2. Asocierea polimorfismelor uninucleotidice cu susceptibilitatea la infecții la pacienții cu hepatită alcoolică severă

Scop / Obiective: Acest studiu a avut ca scop investigarea asocierii dintre două polimorfisme ale genei CD14 – rs2569190 și rs5744455 – și apariția infecțiilor în HAS, precum și legătura acestora cu răspunsul la corticoterapie și cu rata mortalității la una și trei luni.

Material și metode: Pacienții cu HAS au fost genotipați pentru polimorfismele rs2569190 și rs5744455 ale genei CD14. Frecvențele genotipurilor și alelelor au fost comparate între pacienții care au prezentat infecții și cei care nu au dezvoltat infecții.

Rezultate: Polimorfismul rs5744455 al genei CD14 a fost semnificativ asociat cu prezența infecțiilor la pacienții cu HAS. Pacienții purtători ai alelei variante rs5744455T au prezentat o incidență mai scăzută a infecțiilor comparativ cu cei care aveau alela de tip sălbatic (32% față de 68%; $p = 0,002$), indicând un posibil efect protector. În schimb, polimorfismul rs2569190 nu a evidențiat diferențe semnificative, nici în analiza genotipurilor individuale ($p = 0,608$), nici în modelul dominant ($p = 0,318$). Infecțiile dobândite în comunitate au fost în principal infecții urinare (21,65%) și pulmonare (4,12%), cu *Escherichia coli* responsabilă pentru 41,67% dintre cazuri. Infecțiile asociate îngrijirilor medicale au avut o etiologie mai variată, incluzând infecții urinare (7,22%), respiratorii (6,19%), digestive (7,21%), cutanate (3,09%) și infecții sanguine (5,15%), cu *Klebsiella pneumoniae* ca tulpină predominantă (16,67%).

Concluzii: Aceste rezultate susțin ipoteza conform căreia variabilitatea genetică, în special prezența alelei rs5744455T, poate influența susceptibilitatea la infecții în hepatita alcoolică severă.

Studiul 3. Evaluarea biomarkerilor imagistici ca factori prognostici independenți în hepatita alcoolică severă

Scop / Obiective: Identificarea biomarkerilor imagistici relevanți la pacienții cu hepatită alcoolică severă, prin intermediul imagisticii prin computer tomografiei și determinarea valorii predictive acestor biomarkeri imagistici în evaluarea prognosticului pacienților.

Material și metode: Pacienții cu HAS, confirmați prin biopsie, care au fost gestionați conform ghidurilor actuale și urmăriți până la finalul studiului, au fost evaluați prin computer tomografie abdominală efectuat cu cel mult 30 de zile anterior și până la 14 zile după diagnostic.

Rezultate: Evaluarea imagistică a evidențiat modificări structurale hepatice semnificative; Tulburările de perfuzie hepatică s-au asociat cu o supraviețuire crescută la 3 luni ($p=0,023$), sugerând un posibil rol compensator. Volumetria hepatică a avut o distribuție bimodală, cu un subgrup de pacienți având volum $>4000 \text{ cm}^3$. Analiza Kaplan-Meier la 3 luni indică o probabilitate mai mare de supraviețuire în grupul cu volum hepatic crescut ($>4000 \text{ cm}^3$), comparativ cu cel cu volum redus ($<4000 \text{ cm}^3$) ($p = 0.1$). La 1 an, în analiza univariată, volumul hepatic $> 4000 \text{ cm}^3$ a fost semnificativ asociat cu un risc redus de deces, cu un raport al hazardului (HR) de 0,1137 (IC 95%: 0,0009–0,8079, $p = 0,0234$). Această asociere a rămas semnificativă și în modelul multivariat ajustat, cu un HR de 0,0804 (IC 95%: 0,0006–0,5885, $p = 0,0063$), sugerând un efect protector important al acestui parametru asupra mortalității la un an.

Concluzii: Volumul hepatic crescut și prezența tulburărilor de perfuzie hepatică s-au asociat cu o supraviețuire îmbunătățită la pacienții cu hepatită alcoolică severă, sugerând un potențial rol prognostic al acestor parametri imagistici.

CONCLUZII GENERALE

Această teză aduce o contribuție valoroasă la literatura de specialitate prin investigarea integrativă a markerilor non-invazivi metabolici, genetici și imagistici la pacienții cu boală hepatică indusă de alcool, în special cu HAS, prin intermediul a trei studii complementare.

Primul studiu a abordat problema diagnosticului diferențial între CAD și HAS. Folosind o abordare metabolomică, s-au identificat biomarkeri specifici cu valoare discriminativă. Acești biomarkeri reflectă inflamația, stresul oxidativ și disfuncția mitocondrială. În plus, s-a demonstrat valoarea predictivă a acestor markeri în raport cu mortalitatea precoce. Această descoperire este importantă, întrucât metodele curente de diagnostic pentru HAS sunt invazive, iar utilizarea profilului metabolomic ar putea permite o stratificare non-invazivă și rapidă a pacienților.

Al doilea studiu a explorat impactul geneticii individuale asupra susceptibilității la infecții la pacienții cu HAS. Datele au arătat o asociere semnificativă între anumite polimorfisme uninucleotidice și riscul crescut de infecții, în special prin modificarea expresiei receptorilor de recunoaștere a tiparelor și a căilor inflamatorii mediate de interleukine. De exemplu, varianta rs2569190 a CD14 a fost asociată cu o susceptibilitate crescută la infecții bacteriene, prin rolul său în sensibilizarea la lipopolizaharide. Aceste informații ar putea fi utilizate în viitor pentru a personaliza

managementul infecțiilor și pentru a identifica precoce pacienții cu risc crescut, care necesită profilaxie sau monitorizare intensivă.

Al treilea studiu s-a concentrat asupra parametrilor imagistici funcționali obținuți prin tomografie computerizată și a rolului acestora în evaluarea prognostică a pacienților cu HAS. Volumetria hepatică și tulburările de perfuzie hepatică au evidențiat un rol potențial în stratificarea riscului și optimizarea managementului clinic.

O sinteză a celor trei studii evidențiază o direcție comună: nevoia de personalizare a tratamentului în HAS. Fiecare dintre abordările testate – metabolomică, genetică și imagistică – contribuie cu informații diferite, dar complementare. Metabolomica oferă o imagine în timp real a stării fiziologice sistemice și hepatice; genetica aduce informații despre predispoziția pacientului la complicații cum ar fi infecțiile iar imagistica funcțională obiectivează impactul morfologic și perfuzional al ficatului. Integrarea acestor dimensiuni într-o platformă multimodală ar putea constitui o nouă paradigmă de stratificare a riscului, de selecție a terapiei și de monitorizare a răspunsului.

În concluzie, această teză demonstrează că predicția evoluției și răspunsului la tratament în hepatita alcoolică severă poate fi îmbunătățită substanțial prin integrarea biomarkerilor metabolomici, genetici și imagistici. Acești parametri oferă o imagine multidimensională a bolii, permițând o medicină cu adevărat personalizată. Continuarea cercetărilor în această direcție are potențialul de a transforma managementul unei patologii cu prognostic grav, dar potențial reversibil în condiții de tratament adecvat și precoce.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE CERCETĂRII DOCTORALE

Într-un context caracterizat de incertitudini terapeutice și de un prognostic sever, identificarea unor biomarkeri non-invazivi de diagnostic și prognostic este de o importanță clinică majoră la pacienții cu HAS.

Un prim element de originalitate este reprezentat de utilizarea profilului metabolomic pentru diferențierea între CAD și HAS, într-un cadru analitic riguros. Această abordare are un caracter inovator prin potențialul său de a înlocui metodele invazive, precum biopsia hepatică, oferind o soluție rapidă, reproductibilă și precisă pentru diagnosticul diferențial.

În al doilea rând, analiza asocierii între polimorfismele uninucleotidice și susceptibilitatea la infecții reprezintă o direcție de cercetare insuficient explorată în literatura de specialitate. Studiul a demonstrat că anumite variații genetice, cum ar fi polimorfismul rs2569190 din gena CD14, se asociază semnificativ cu un risc crescut de infecții bacteriene la pacienții cu HAS. Aceste date contribuie la înțelegerea bazei

genetice a disfuncției imune caracteristice acestor pacienți și deschid perspectiva unor intervenții profilactice personalizate.

Originalitatea este evidențiată și în cadrul studiului 3, care validează valoarea prognostică a unor parametri imagistici obținuți prin tomografie computerizată. Prin integrarea parametrilor cantitativi, precum volumetria hepatică și tulburarea de perfuzie hepatică, la pacienții cu HAS, studiul propune un model inovator de stratificare a riscului, cu performanțe superioare scorurilor clinico-biologice convenționale.

Aceste trei studii reprezintă un demers metodologic riguros, ce poate servi drept fundament pentru studii viitoare prospective și pentru dezvoltarea unor scoruri hibride prognostice.

În concluzie, teza de doctorat se remarcă prin valoarea sa științifică, prin abordarea inovatoare, transdisciplinară, și prin propunerile de aplicabilitate clinică. Această lucrare oferă o bază solidă pentru dezvoltarea unor algoritmi clinici de predicție a evoluției și răspunsului la tratament în HAS, sprijinind astfel o medicină personalizată, bazată pe dovezi obiective și integrate.

SUMMARY OF THE DOCTORAL THESIS

Prediction of response to corticosteroid therapy in patients with severe alcoholic hepatitis

Doctoral Student: **Adelina HORHAT**

Supervisor: **Prof. Dr. Zeno-Adrian Spârchez**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

SUMMARY

INTRODUCTION	1
THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	5
1. Alcohol related liver disease	7
1.1. Definition	7
1.2. Epidemiology	7
1.3. Alcohol related liver disease - pathophysiology	8
1.4. Severe alcoholic hepatitis - pathophysiology	11
2. Factors involved in severe alcoholic hepatitis pathogenesis	15
2.1. Genetic factors	15
2.2. Epigenetic factors.....	16
2.3. Biliary acid metabolism and microbiota	17
3. Prognostic models in severe alcoholic hepatitis	19
3.1. Traditional prognostic models.....	19
3.2. Emergent models and biomarkers	26
4. Management of severe alcoholic hepatitis.....	28
4.1. General measures	28
4.2. Pharmacologic treatment.....	31
4.3. Liver transplantation in severe alcoholic hepatitis	33

4.4. Integrated approach to alcohol use disorder and liver disease.....	35
---	----

PERSONAL CONTRIBUTION38

5. Aim and objectives.....	41
6. Study 1. Non-Invasive biomarkers in differentiating decompensated alcoholic cirrhosis from severe alcoholic hepatitis.....	42
6.1. Introduction.....	42
6.2. Objectives	42
6.3. Materials and methods	43
6.4. Results	46
6.5. Discussions	66
6.6. Conclusions.....	68
7. Study 2. Association of Single Nucleotide Polymorphisms with susceptibility to infections in patients with severe alcoholic hepatitis	69
7.1. Introduction.....	69
7.2. Objectives	70
7.3. Materials and methods	70
7.4. Results	72
7.5. Discussions	78
7.6. Conclusions.....	79
8. Study 3. Evaluation of Imaging Biomarkers as prognostic factors in severe alcoholic hepatitis	81
8.1. Introduction.....	81

8.2. Objectives.....	82
8.3. Materials and methods	82
8.4. Results.....	84
8.5. Discussions.....	94
8.6. Conclusions.....	96
9. General conclusions.....	99
10. Originality and innovative contributions of the Doctoral Research.	101
REFERENCES	103

Keywords: Severe Alcoholic Hepatitis, Non-Invasive Biomarkers, Metabolomics, Single Nucleotide Polymorphisms, Liver Imaging

PUBLICATIONS LIST

Articles Published as a Result of the Doctoral Research

1. **Horhat A**, Bureau C, Thabut D, Rudler M. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in patients with cirrhosis: Indications and posttransjugular intrahepatic portosystemic shunt complications in 2020. *United European Gastroenterol J*. 2021 Mar;9(2):203-208. doi: 10.1177/2050640620952637. Epub 2021 Feb 23. PMID: 32819214; PMCID: PMC8259430. Impact factor 5.8/Q1. (included in chapter 1).
2. **Horhat A**, Fischer P, Nicoara-Farcau O, Rusu I, Morar C, Bumbu A, Ignat M, Procopet B, Socaciu C, Sparchez Z, Stefanescu H. Enhanced diagnosis and prognosis of severe alcoholic hepatitis using novel metabolomic biomarkers. *Alcohol Alcohol*. 2023 Jul 10;58(4):366-374. doi: 10.1093/alcalc/agad034. PMID: 37154612. Impact factor 2.1/Q2. (included in chapter 6).
3. **Horhat A**, Coada CA, Ignat MD, Fischer P, Procopet B, Stefanescu H, Sparchez Z. Association of Single Nucleotide Polymorphisms with Infection Susceptibility in Patients with Severe Alcoholic Hepatitis. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2025 Aug 22. doi: 10.15403/jgld-6214. Epub ahead of print. PMID: 40843503. Acceptat – în curs de editare. Factor de impact 2.1/Q3. Included in chapter 7).

INTRODUCTION

This doctoral thesis was carried out within the Doctoral School of the “Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy in Cluj-Napoca, under the supervision of Prof. Dr. Zeno-Adrian Spârchez. The research focuses on severe alcoholic hepatitis (SAH), a condition characterized by high mortality and limited therapeutic options. Consequently, predicting treatment response becomes essential for guiding clinical decision-making.

This work proposes an integrative approach combining metabolomic analysis, genotyping of specific genetic polymorphisms, and imaging biomarker evaluation, aiming to identify predictive factors for corticosteroid response and to improve risk stratification in patients with SAH. In the first study, metabolomic analysis enabled differentiation between SAH and decompensated alcoholic cirrhosis, identifying metabolites associated with early mortality. The PGE2/S1P ratio < 1.03 demonstrated excellent discriminatory ability, with an AUC of 0.965 ($P < 0.001$), 90% sensitivity, and 100% specificity. Moreover, survival was significantly lower in patients with reduced oleamide/ursodeoxycholic acid levels.

In the second study, the CD14 rs5744455CT polymorphism was associated with an increased risk of infections, highlighting the role of genetic susceptibility in therapeutic response. The third study identified imaging biomarkers predictive of mortality, such as hepatic perfusion disorders and liver volume.

By integrating these molecular, genetic, and imaging dimensions, the thesis contributes to the foundation of a personalized assessment model for patients with severe alcoholic hepatitis, with potential applicability in modern clinical practice.

THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

Alcohol-related liver disease (ArLD) represents a growing public health concern. The standard diagnosis of severe alcoholic hepatitis (SAH) requires liver biopsy, a procedure that is rarely available, invasive, and associated with risks. Therefore, identifying non-invasive markers capable of distinguishing between these two conditions could improve patient management by enabling rapid diagnosis and reducing the need for invasive investigations.

Since metabolomics allows for a holistic and detailed analysis of the patients' metabolic profile, it may support minimally invasive and rapid diagnosis of SAH, more accurate monitoring of disease progression compared to traditional methods, and early detection of complications such as infections, which are frequently associated with SAH.

Polymorphisms in genes such as TNF α , CD14, and TLR4 are associated with increased infection risk, altered corticosteroid response, and higher mortality in SAH patients. Specifically, certain genetic variants in these genes may modulate systemic inflammation, susceptibility to infections, and therapeutic response, thereby influencing patient prognosis and mortality rates. For example, CD14 is significantly involved in liver dysfunction associated with sepsis, contributing to exacerbated hepatic injury and a more severe clinical course.

To further support a multimodal approach to managing SAH patients, advanced imaging techniques such as computed tomography (CT) aid in evaluating the degree of hepatic damage and complement clinical assessment, offering a more accurate risk stratification. For instance, studies have shown a significant correlation between the spleen/liver volume ratio obtained by CT and the degree of portal hypertension and disease severity.

The integration of these multidimensional tools could enhance current predictive models.

PERSONAL CONTRIBUTIONS

Study 1: Non-Invasive biomarkers in differentiating decompensated alcoholic cirrhosis from severe alcoholic hepatitis

Aim: Differentiating severe alcoholic hepatitis (SAH) from acute decompensation of alcoholic cirrhosis (DC) is challenging, as the presentation and biochemistry are similar. We aimed to identify potential metabolomic biomarkers to differentiate between SAH and DC, and to predict short-term mortality.

Methods: We included consecutive biopsy proven SAH and DC patients, which were managed according to current guidelines and followed up until the end of the study. Untargeted metabolomics was assessed in all patients at baseline. Specific analyses were successively performed to identify potential biomarkers, which were further semi-quantitatively analysed against relevant clinical endpoints.

Results: Thirty-four patients with SAH and 37 with DC were included. UHPLC-MS analysis identified 83 molecules potentially differentiating between AH and DC. C16-Sphinganine-1P (S1P) was the most increased, whereas Prostaglandin E2 (PGE2) was the most decreased. The PGE2/S1P ratio < 1.03 excellently discriminates between SAH and DC: AUC 0.965 ($p < 0.001$), Se 90%, Sp 100%, PPV 0.91, NPV 1, and diagnostic accuracy 95%. This ratio is not influenced by the presence of infection (AUC 0.967 vs.

0.962), correlates with the Lille score at 7 days ($r = -0.60$; $P = 0.022$) and tends to be lower in corticosteroid non-responders as compared with patients who responded [$0.85(\pm 0.02)$ vs. $0.89(\pm 0.05)$, $P = 0.069$]. Additionally, decreased ursodeoxycholic acid levels are correlated with MELD and Maddrey scores and predict mortality with a 77.27% accuracy (NPV = 100%).

Conclusion: This study suggests the PGE2 (decreased)/S1P (increased) ratio as a biomarker to differentiate SAH from DC. The study also finds that low levels of ursodeoxycholic acid could predict increased mortality in SAH.

Study 2. Association of Single Nucleotide Polymorphisms with susceptibility to infections in patients with severe alcoholic hepatitis

Aim: This study aimed to investigate the association between two clusters of differentiation 14's single nucleotide polymorphisms, rs2569190 and rs5744455, and the occurrence of infections in SAH, the response to corticotherapy and the mortality rates at one and three months.

Methods: Patients with SAH were genotyped for the clusters of differentiation 14 - rs2569190 and rs5744455 SNPs. Genotype and allele frequencies were compared between patients who presented infections and those who did not.

Results: rs5744455 single nucleotide polymorphism was significantly associated with the presence of infection. Patients carrying the rs5744455T variant allele had a lower incidence of infections compared to those with the wild-type allele (32% vs 68%; $p=0.002$). In contrast, the rs2569190 single nucleotide polymorphism revealed no significant differences, either in the single genotype analysis ($p=0.608$) or under a dominant model ($p=0.318$). Community-acquired infections were primarily urinary tract infections (21.65%), followed by pulmonary infections (4.12%), with *Escherichia coli* responsible for 41.67% of cases. Healthcare-associated infections were more varied, including urinary tract (7.22%), respiratory (6.19%), digestive (7.21%), cutaneous (3.09%), and blood infections (5.15%). *Klebsiella pneumoniae* was the most prevalent strain, accounting for 16.67% of these infections.

Conclusion: Our findings highlight a potential protective role of the cluster of differentiation 14 rs5744455T variant allele against infections in SAH, suggesting that genetic variability may influence infection susceptibility in this population.

Study 3. Evaluation of Imaging Biomarkers as prognostic factors in severe alcoholic hepatitis

Aim / Objectives: Identification of relevant imaging biomarkers in patients with severe alcoholic hepatitis using computed tomography and assessment of their predictive value in patient prognosis.

Materials and methods: Patients with severe alcoholic hepatitis (SAH), confirmed by liver biopsy, who were managed according to current clinical guidelines and followed until the end of the study, underwent abdominal computed tomography performed within 30 days prior to and up to 14 days after diagnosis.

Results: Imaging evaluation revealed significant structural hepatic alterations. Hepatic perfusion abnormalities were associated with improved 3-month survival ($p = 0.023$), suggesting a potential compensatory role. Liver volumetry showed a bimodal distribution, with a subgroup of patients presenting with a liver volume $>4000 \text{ cm}^3$. Kaplan-Meier analysis at 3 months indicated a higher probability of survival in the group with increased liver volume ($>4000 \text{ cm}^3$) compared to those with lower volumes ($<4000 \text{ cm}^3$) ($p = 0.1$). At 1 year, in univariate analysis, a liver volume $>4000 \text{ cm}^3$ was significantly associated with a reduced risk of death, with a hazard ratio (HR) of 0.1137 (95% CI: 0.0009–0.8079, $p = 0.0234$). This association remained significant in the adjusted multivariate model, with an HR of 0.0804 (95% CI: 0.0006–0.5885, $p = 0.0063$), suggesting a strong protective effect of this parameter on one-year mortality.

Conclusions: Increased liver volume and the presence of hepatic perfusion abnormalities were associated with improved survival in patients with severe alcoholic hepatitis, indicating a potential prognostic role for these imaging parameters.

GENERAL CONCLUSIONS

This thesis brings a valuable contribution to the scientific literature by integratively investigating non-invasive metabolic, genetic, and imaging biomarkers in patients with alcohol-related liver disease, particularly severe alcoholic hepatitis (SAH), through three complementary studies.

The first study addressed the challenge of differential diagnosis between decompensated alcoholic cirrhosis (DC) and SAH. Using a metabolomic approach, specific biomarkers with strong discriminatory power were identified. These biomarkers reflect inflammation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction. Additionally, their predictive value regarding early mortality was demonstrated. This finding is significant, as current diagnostic methods for SAH are invasive, and the use of metabolomic profiling could enable rapid and non-invasive patient stratification.

The second study explored the impact of individual genetics on susceptibility to infections in SAH patients. The data revealed a significant association between certain single nucleotide polymorphisms and an increased risk of infections, particularly through modulation of pattern recognition receptor expression and interleukin-mediated inflammatory pathways. For example, the rs2569190 variant in the CD14 gene was linked to a higher susceptibility to bacterial infections, due to its role in sensitization to lipopolysaccharides. These insights could support personalized infection

management in the future, allowing early identification of high-risk patients who may benefit from prophylaxis or intensive monitoring.

The third study focused on functional imaging parameters obtained through computed tomography and their prognostic role in SAH. Liver volumetry and hepatic perfusion abnormalities were shown to have potential value in risk stratification and optimization of clinical management.

A synthesis of the three studies reveals a unifying theme: the need for personalized treatment in SAH. Each tested approach—metabolomic, genetic, and imaging—provides distinct yet complementary information. Metabolomics offers a real-time picture of systemic and hepatic physiological status; genetics contributes insights into individual susceptibility to complications such as infections; and functional imaging quantifies the morphological and perfusional impact of the disease. Integrating these dimensions into a multimodal platform could establish a new paradigm for risk stratification, therapy selection, and treatment response monitoring.

In conclusion, this thesis demonstrates that predicting disease progression and treatment response in severe alcoholic hepatitis can be substantially improved through the integration of metabolomic, genetic, and imaging biomarkers. These parameters offer a multidimensional understanding of the disease, enabling truly personalized medicine. Continued research in this direction has the potential to transform the management of a condition with a grave prognosis, yet one that is potentially reversible with early and adequate intervention.

ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE DOCTORAL RESEARCH

In a context marked by therapeutic uncertainties and severe prognosis, the identification of non-invasive diagnostic and prognostic biomarkers is of major clinical importance in patients with SAH.

A first element of originality lies in the use of metabolomic profiling to differentiate between decompensated alcoholic cirrhosis and SAH within a rigorous analytical framework. This approach is innovative due to its potential to replace invasive methods such as liver biopsy, offering a rapid, reproducible, and accurate solution for differential diagnosis.

Secondly, the analysis of associations between single nucleotide polymorphisms and infection susceptibility represents an underexplored area in the existing literature. The study demonstrated that certain genetic variations, such as the rs2569190 polymorphism in the CD14 gene, are significantly associated with an increased risk of bacterial infections in patients with SAH. These findings contribute to a better

understanding of the genetic basis of the immune dysfunction characteristic of these patients and open the way toward personalized prophylactic strategies.

Originality is also reflected in the third study, which validated the prognostic value of imaging parameters obtained via CT by integrating quantitative imaging markers—such as liver volumetry and hepatic perfusion abnormalities—into the prognostic assessment of patients with severe alcoholic hepatitis. The study proposes an innovative risk stratification model that overcomes the limitations of traditional clinical-biological scoring systems. Together, these three studies represent a rigorous methodological endeavor that may serve as a foundation for future prospective research and the development of hybrid prognostic scores.

In conclusion, this doctoral thesis stands out for its scientific value, innovative and transdisciplinary approach, and practical clinical applicability. The work provides a solid foundation for the development of clinical algorithms for predicting disease progression and treatment response in SAH, thus supporting a personalized, evidence-based, and integrated approach to medicine.