

BENEFICIUL ACIDULUI URSODEOIXICOLIC ÎN STEATOZA HEPATICĂ NON-ALCOOLICĂ LA COPIL

**Drd. Otilia E. Frăsinariu¹, Dr. Laura Bozomitu², Dr. Alice Azoicăi³,
Dr. Bogdan A. Stana³, Dr. Paula Popovici³, Prof. Dr. Evelina Moraru³**

¹Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași

²Clinica V Pediatrie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași

³Clinica II Pediatrie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași

REZUMAT

Introducere. Boala ficatului gras non-alcoolic (NAFLD), cea mai frecventă cauză a bolii hepatice cronice la copii, cuprinde un spectru de afecțiuni variind de la steatoză simplă până la steatohepatită (NASH). Acidul ursodeoxicolic (UDCA) a fost utilizat la pacienți adulți cu NASH, demonstrându-și eficacitatea în doze crescute.

Scop. De a evalua efectul tratamentului cu doze crescute de UDCA asupra parametrilor funcției hepatice la copii cu NASH.

Metode. Lotul de studiu a fost constituit din 18 copii cu NASH cu vârste cuprinse între 2,5 și 17 ani. NASH a fost operațional definit ca ficatul difuz hiperechogenic la ecografie cu valori persistent crescute (> 35 UI/l) ale alanin aminotransferazei (ALAT) sau aspartat aminotransferazei (AST), după excluderea cauzelor virale, drog sau alcool induse, colestatice sau genetice ale bolii hepatice. Pacienții au fost tratați cu acid ursodeoxicolic (20 mg/kg/zi), timp de șase luni.

Rezultate. Tratamentul cu UDCA a determinat scăderea semnificativă a valorilor transaminazelor hepatice. Nivelurile ALT au variat între 68,5 (50-166) inițial vs 47 (29-104) după șase luni, $p < 0,001$, AST între 43 (29-101) vs 34 (17-75), $p < 0,001$, și GGT între 41,5 (11-150) vs. 22 (8-55). La sfârșitul tratamentului, niveluri ALT s-au normalizat la 4 dintre pacienți. De asemenea, concentrațiile de colesterol au fost semnificativ reduse după tratament.

Concluzii. Tratamentul cu doze crescute de acid ursodeoxicolic îmbunătățește parametrii funcției hepatice la copii cu NASH.

Cuvinte cheie: steatoză hepatică, acid ursodeoxicolic, transaminaze hepatice

INTRODUCERE

În ultimele două decade, boala ficatului gras non-alcoolic (NAFLD) a înregistrat creșteri epidemice ale prevalenței și devine cea mai comună cauză de boală hepatică cronică la copil (1). NAFLD cuprinde sub aspect histologic un spectru care variază de la steatoza simplă [ficatul gras non-alcoolic (NAFL)] la steatoză ce asociază inflamație cu leziuni celulare [steatohepatita non-alcoolică (NASH)], iar evoluția poate implica fibroză (2). Unele cazuri pot progresa spre ciroză cu hipertensiune portală și chiar hepatocarcinom la vârsta adultă. Obezitatea, dislipidemiile și insulino-rezistența sunt cei mai comuni factori de risc asociați cu NAFLD la copil. Cunoscându-se riscurile carac-

terului potențial progresiv al steatohepatitei, multe cercetări s-au focusat pe terapia acestei afecțiuni. Pierderea în greutate, exercițiul fizic, controlul diabetului și al dislipidemiilor constituie principalele direcții de tratament la copil (3). Asociate acestor măsuri de modificare a stilului de viață, o serie de agenți farmacologici cum ar fi metforminul, vitamina E, acizii grași omega 3, acidul ursodeoxicolic s-au dovedit a avea efecte benefice la pacienții cu NAFLD și NASH (4).

Acidul ursodeoxicolic (UDCA), prin efectele sale hepatoprotective și antiapoptotice, poate avea un efect benefic în evoluția și progresia steatohepatitei. Trialurile clinice la adulți au arătat că doza standard de acid ursodeoxicolic (13-15 mg/kg) este inefficientă în tratamentul NASH, dar doze

Adresa de corespondență:

Drd. Otilia E. Frasinariu, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Str. Universității Nr. 16, Iași

crescute (28-32 mg/kg pe zi) pot avea rezultate favorabile asupra nivelurilor transaminazelor (5). Acțiunea acidului ursodeoxicolic este doză-răspuns dependentă, iar doze crescute de 20 mg/kg pe zi au avut efecte benefice asupra modificărilor valorilor biochimice și fibrozei hepatice la copii cu colangită sclerozantă primară sau coleastă din fibroza chistică (6,7).

Obiectivul studiului a fost evaluarea efectelor dozelor relativ crescute (20 mg/kg/zi) de acid ursodeoxicolic asupra parametrilor funcției hepatice și ecografici la copii cu steatoză hepatică non-alcoolică.

MATERIAL ȘI METODĂ

Lotul de studiu a inclus un număr 18 copii, cu vârste cuprinse între 2,5 și 17 ani, cu media de vârstă de $9,39 \pm 4,13$, selectați dintre pacienții cu diagnosticul de steatoză hepatică non-alcoolică, monitorizați în Clinica II Pediatrie a Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Sf. Maria” Iași în perioada ianuarie 2010 – decembrie 2012. Pacienții au fost supravegheați între 8 luni și 2 ani.

NAFLD a fost operațional definit ca ficatul difuz hiperechogenic la ecografie cu valori persistente crescute (> 35 UI/L) ale alanin transferazei (ALT) sau aspartat transferazei (AST), după excluderea cauzelor virale, drog sau alcool induse, colestatice și genetice ale bolii hepatice. Criteriile de includere le-au constituit valori ale alanin aminotransferazei ≥ 50 UI/L și ecografia semnificativă.

Pacienților li s-a administrat acid ursodeoxicolic, 20 mg/kg/zi, în două doze divizate la micul dejun și seara, timp de șase luni. Toți pacienții au fost consiliați în ceea ce privește modificarea dietei prin consumul unei alimentații sănătoase și efectuarea de exerciții fizice regulate la evaluarea inițială, dar nu a fost instituită nici o măsură dietetică specifică.

Monitorizarea în dinamică s-a efectuat prin evaluări ale funcției hepatice, glicemiei, profilului lipidic și aspectului ecografic la intervale de 3 luni. Parametrii sindromului metabolic au fost apreciați după criteriile IDF, 2007 (8). Pentru evaluarea gradului de fibroză inițială s-a efectuat Fibroscan, valorile de referință fiind considerate cele de la adult (9). S-a cuantificat modificarea valorilor transaminazelor hepatice la finalul perioadei de tratament. Analiza statistică s-a realizat cu ajutorul programului SPSS 19. Semnificația statistică s-a stabilit pentru o valoare $p < 0,05$.

REZULTATE

Caracteristicile clinice și biologice ale pacienților la începutul perioadei de urmărire sunt redate în Tabelul 1. Nivelurile enzimelor hepatice au fost cele specifice pacienților cu steatohepatită non-alcoolică, cu aminotransaminase moderat crescute și un raport AST/ALT mai mic de 1.

TABELUL 1. Caracteristicile pacienților la începerea tratamentului

	Medie/DS	Mediană	Minimum	Maximum
BMI (kg/m ²)	23,02 ± 6,32	21,79	15,70	34,87
CA (cm)	72,61 ± 20,92	68	43	114
ALT (UI/L)	80,11 ± 33,17	68,5	50	166
AST (UI/L)	52,22 ± 22,63	43	29	101
GGT (UI/L)	49,16 ± 39,34	41,5	11	150
BT (mg/dl)	0,50 ± 0,19	0,485	0,20	0,87
Glicemia (mg/dl)	93,38 ± 11,58	92	76	116
Colesterol (mg/dl)	168,5 ± 40,88	167,5	114	291
Trigliceride (mg/dl)	117,6 ± 75,01	102,5	43	378
Fibroscan (kPa)	5,66 ± 1,08	5,4	4,3	7,3

La 10 dintre pacienți valorile ALT au fost cuprinse între 1,5-2 x VN, iar la 8 dintre pacienți valorile ALT au fost mai mari de 2xVN. GGT a înregistrat valori peste 1,5 x VN la 33,3% dintre pacienți. La 38,8% dintre pacienți, valorile glicemiei à jeun au fost peste 100 mg/dl, iar la 11 pacienți, glicemia a fost în limite normale. Doi dintre pacienți s-au încadrat în parametrii sindromului metabolic, prezentând circumferința abdominală mai mare de percentila de 90, glicemia à jeun ≥ 100 mg/dl, trigliceride ≥ 150 mg/dl și tensiune arterială sistolică peste 130 mmHg. La 61,1% dintre pacienți s-a regăsit cel puțin o componentă a sindromului metabolic.

Evaluarea fibrozei prin Fibroscan a relevat prezența fibrozei F2 la 2 dintre pacienți, stadiu F1 la 6 pacienți și F0 la 10 pacienți. A existat o corelație semnificativă statistic între gradul fibrozei și nivelul ALT ($p < 0,05$) și AST ($p < 0,01$).

De-a lungul perioadei de urmărire, nu au fost raportate modificări semnificative ale schimbării stilului de viață. Pe timpul celor 6 luni, greutatea corporală a pacienților a rămas relativ constantă. IMC a variat nesemnificativ de la momentul începerii urmăririi la 6 luni de tratament, $23,02 \pm 6,32$ kg/m² vs. $22,71 \pm 5,78$ kg/m² ($p = 0,12$).

La sfârșitul perioadei de administrare a UDCA s-a observat o reducere a valorilor transaminazelor hepatice. Mediana (intervalul) valorilor absolute

ALT s-a ameliorat semnificativ de la valoarea inițială 68,5 (50-166) la 47 (29-104), $p < 0,001$, la 6 luni. Media reducerii valorilor ALT a fost de $-27,22 \pm 18,56$. Nivelurile ALT s-au normalizat la 4 dintre pacienți la finalul perioadei de tratament.

Reducerea aspartat aminotransferazei a urmat un trend similar reducerii ALT, dar într-un grad mai redus. Mediana (intervalul) valorilor AST a variat semnificativ de la 43 (29-101) la 34 (17-75), $p < 0,001$. Media reducerii valorilor AST a fost de $-15,05 \pm 11,96$. Tratamentul cu acid ursodeoxicolic s-a asociat, de asemenea, cu o scădere semnificativă ($p < 0,05$) a nivelurilor GGT, mediana variind între 41,5 (11-150) vs. 22 (8-55).

Modificări statistic semnificative ($p < 0,01$) au înregistrat și valorile colesterolului, mediana variind între 167,5 (114-291) vs 154,5 (115-239). Modificările colesterolului nu s-au corelat cu modificările IMC, sugerând că efectele metabolice asociate administrării de UDCA nu pot fi atribuite modificării greutateii corporale pe perioada tratamentului.

Nu s-au înregistrat modificări semnificative ale valorilor bilirubinei totale, fosfatazei alcaline, glicemiei sau trigliceridelor. Aspectul ecografic nu a variat la finalul celor 6 luni de administrare a UDCA.

DISCUȚII

Argumentele epidemiologice, care relevă o incidență în creștere a NAFLD, de cele mai multe ori în relație cu prevalența fără precedent a obezității, au impus o nevoie imperioasă pentru implementarea unor terapii specifice și sigure.

Acidul ursodeoxicolic este un acid biliar natural, hidrofilic, care constituie apoximativ 3% din conținutul bilei umane, cu numeroase proprietăți hepatoprotectoare și imunomodulatoare. UDCA stabilizează membranele mitocondriale și reduce eliberarea de enzime hidrolitice din hepatocitele deteriorate. Hepatocitele încărcate cu grăsime sunt mai susceptibile la necroză și la eliberarea de specii

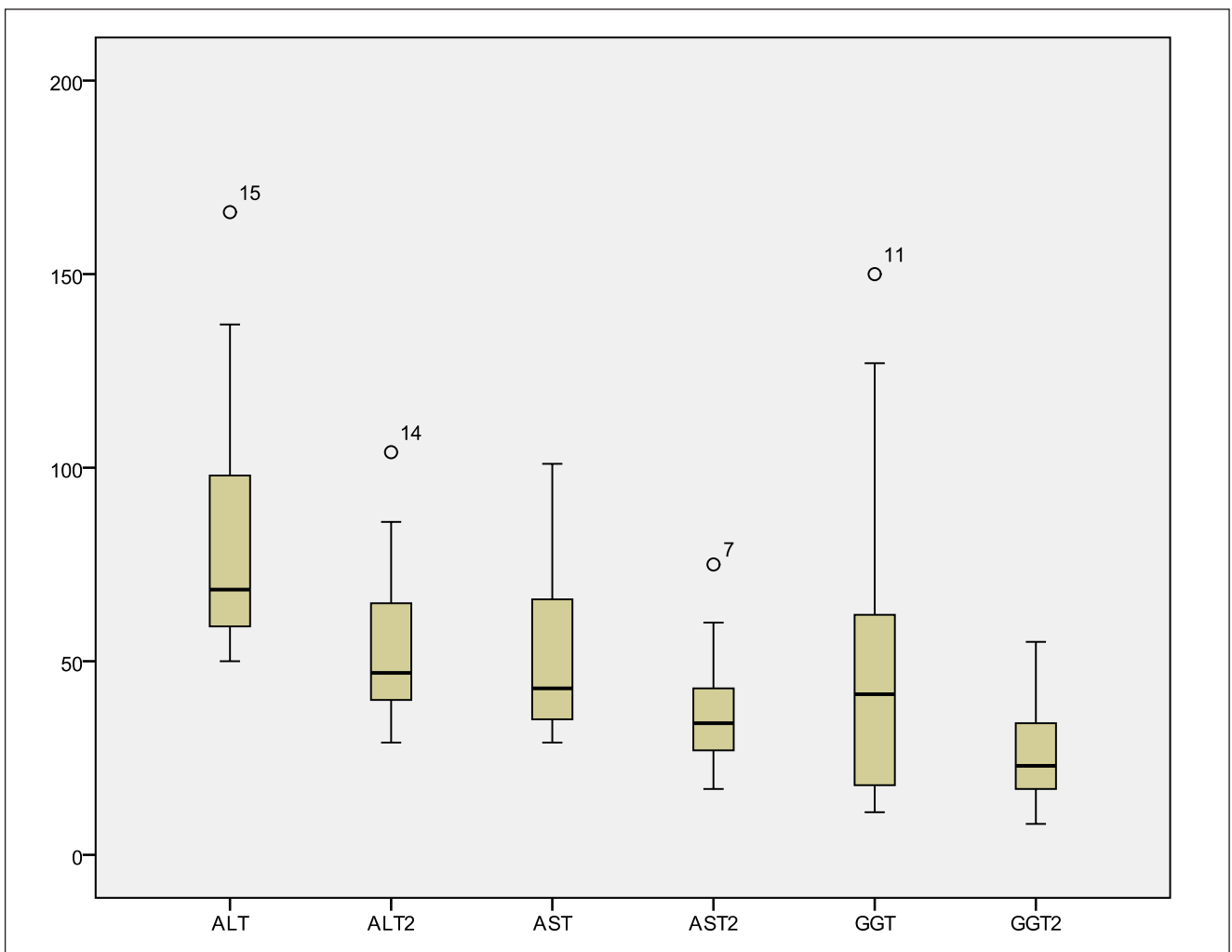


FIGURA 1. Variațiile enzimelor hepatice la momentul 0 vs. după tratament

reactive de oxigen. În acest context, UDCA ar putea ameliora disfuncția și leziunea celulară hepatică determinată de stresul oxidativ în NASH (10). Efectele de modulare a căilor de semnalizare anti-apoptotice ale UDCA ar putea constitui un efect benefic în steatohepatita non-alcoolică (11), în care apoptoza celulară s-a dovedit a fi crescută. În plus, studiile au arătat că TNF- α ar avea o contribuție semnificativă la dezvoltarea insulino-rezistenței și nivelurile serice ar fi crescute la pacienții cu NASH. Cel puțin la pacienții cu coleastăză cronică, UDCA a determinat scăderea nivelurilor de TNF- α , asociat cu îmbunătățirea parametrilor biologici și histologici (12).

Administrarea de acid ursodeoxicolic a condus în studiul nostru la scăderea semnificativă a nivelurilor transaminazelor la pacienții cu NAFLD, iar la 22,2% dintre pacienți s-a produs o normalizare a nivelurilor ALT. Neavând confirmarea bioptică a steatohepatitei, am considerat ca marker al injuriei hepatice valorile mai mari de 1.5xVN ale ALT. În acest context putem presupune că reducerea nivelurilor ALT ar putea reflecta o îmbunătățire a inflamației hepatice. Nivelurile ALT sunt considerate ca parametru reprezentativ pentru evaluarea îmbunătățirii necroinflamăției hepatice, având valoare predictivă asupra modificărilor histologice. Corelația cu evoluția IMC arată că scăderea în greutate nu poate fi considerată cauza implicată în scăderea transaminazelor. De asemenea, la pacienții urmăriți s-a înregistrat o scădere semnificativă a nivelului colesterolului. Dislipidemia fiind recunoscută ca factor de risc în apariția steatozei, scăderea valorilor colesterolului ar putea ameliora încărcarea grasă a ficatului în evoluție.

Datele din literatură privind eficacitatea UDCA în NASH sunt variate și discordante. În 1996, Laurin et al. a evidențiat, pe un lot de 24 de adulți cu NASH, că UDCA în doze de 13-15 mg/kg/zi a determinat o scădere semnificativă a nivelurilor alanin aminotransferazei (-30%), GGT (-45%), și, de asemenea, scăderea gradului histologic al steatozei (13). În urma unui studiu randomizat efectuat la adulți, Lindor et al., 2004, au arătat că tratamentul cu UDCA (13-15 mg/kg) versus placebo pentru 2 ani a determinat aceleași scăderi ale niveluri ALT în ambele grupuri. Din punct de vedere histologic s-a înregistrat doar o ameliorare a steatozei, similară în ambele grupuri (14). Studiul condus de Dufour et al., 2006, a arătat efecte semnificative ale asocierii UDCA cu vitamina E, dar nu și ale UDCA versus placebo. Rezultatele negative au ridicat întrebarea dacă administrarea unor dozele crescute ar avea beneficii în NASH (15). Ratziu et al., 2011, într-un

studiu randomizat la adulți, a arătat că administrarea de doze crescute de UDCA (28-35 mg/kg/zi) a determinat scăderi semnificative ale nivelurilor transaminazelor, glicemiei și insulinemiei la un an după tratament. Studiul nu a avut și end-point histologic, dar s-a realizat o evaluare a markerilor non-invazivi ai inflamației și fibrozei prin Fibrotest, înregistrându-se, de asemenea, o scădere semnificativă (5). Un alt studiu realizat la adulți, cu punct de urmărire histologic, a arătat că administrarea de 23-25 mg/kg/zi de UDCA a adus îmbunătățiri ale nivelurilor transaminazelor, dar acestea au fost ne semnificativ statistic în comparație cu valorile grupului de control. Studiul nu a relevat nici îmbunătățiri ale aspectul histologic după 18 luni de tratament (16). Dozele convenționale de UDCA folosite pe un lot de copii obezi nu au arătat îmbunătățiri asupra nivelurilor transaminazelor și nici asupra aspectului ecografic al ficatului (17). Pe lotul nostru de copii, administrarea unor doze mai mari de acid ursodeoxicolic a determinat scăderi ale nivelului transaminazelor hepatice, chiar dacă nu s-au produs normalizări ale alaninaminotransferazei decât la 22,2% dintre pacienți.

Nu au existat efecte adverse grave; s-au înregistrat doar discrete dureri abdominale sau accentuarea tranzitului intestinal, care nu au impus întreruperea terapiei. Din cauza intervalului relativ scurt de urmărire, nu am evaluat gradul de fibroză și la finalul tratamentului, posibilitatea apariției unor modificări importante ai parametrilor fibrozei fiind redusă. Totuși evaluarea fibrozei necesită supraveghere în dinamică din cauza caracterului progresiv al steatohepatitei non-alcoolice.

Una dintre limitele studiului de față este numărul relativ mic de pacienți. Deși lotul este mic și există oarecare neomogenitate a parametrilor dislipidemie și BMI, efectul terapeutic și siguranța preparatului constituie argumente ale utilizării, în condițiile în care la copil nu se pot utiliza alți agenți farmacologici utilizați la adult.

CONCLUZII

Dozele crescute de acid ursodeoxicolic pot avea un efect benefic în tratamentul afectării hepatice cronice la copii cu steatohepatită non-alcoolică. O analiză mai detaliată prin studii randomizate controlate a efectelor acidului ursodeoxicolic în doze crescute în steatoza hepatică non-alcoolică la copil ar putea aduce date suplimentare asupra indicațiilor de tratament la vârsta pediatrică. De asemenea, sunt necesare studii care să urmărească modificările metabolice asociate inflamației pentru a defini diversele mecanisme de acțiune.

Ursodeoxycholic acid benefit in pediatric non-alcoholic fatty liver disease

Otilia E. Frasinariu¹, Laura Bozomitu², Alice Azoicăi³, Bogdan Stana³,
Paula Popovici³, Evelina Moraru³

¹PhD student, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iasi

²5th Pediatrics Clinic, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iasi

³2nd Pediatrics Clinic, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iasi

ABSTRACT

Introduction. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), the most common cause of chronic liver disease in children, encompasses a range of disease from simple steatosis to steatohepatitis (NASH). Ursodeoxycholic acid (UDCA) has been used in adult patients with NASH, demonstrating its efficacy in high doses.

Purpose. The aim of our study was to assess the effect of high-dose ursodeoxycholic acid therapy on liver functions in children with NASH.

Methods. We prospectively studied 18 children with NASH aged 2.5 to 17 years. NASH was operationally defined as diffusely hyperechogenic liver at ultrasonography with persistently elevated (> 35 UI/l) alanine aminotransferase (ALT) or aspartate aminotransferase (AST) after exclusion of viral, alcohol-induced, drug-induced, cholestatic and genetic causes of liver disease. Patients were treated with ursodeoxycholic acid (20 mg/kg per day) for six months.

Results. Treatment with UDCA significantly decreased hepatic transaminases. ALT levels ranged from 68.5 (50-166) at baseline vs. 47 (29-104) after six months, $p < 0.001$, AST from 43 (29-101) 34 (17-75), $p < 0.001$, and GGT between 41.5 (11-150) vs. 22 (8-55). At the end of treatment, ALT levels normalized in 4 patients. Moreover, cholesterol levels were significantly reduced after treatment.

Conclusions. Treatment with high-dose ursodeoxycholic acid improves liver function parameters in children with NASH.

Key words: NASH, ursodeoxycholic acid, liver enzymes

INTRODUCTION

In the last two decades, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has reached epidemic prevalence and became the most common cause of chronic liver disease in children (1). NAFLD comprises a spectrum of clinico-histological entities ranging from simple steatosis [Nonalcoholic fatty liver (NAFL)] to steatosis associated with inflammation and cell injury [non-alcoholic steatohepatitis (NASH)], that can involve fibrosis development (2). Some cases may progress to cirrhosis and even hepatocellular carcinoma with portal hypertension in adulthood. Obesity, dyslipidemia and insulin-resistance are the most common risk factors associated with pediatric NAFLD. Given the progressive nature of steatohepatitis, several researches have focused on the treatment of this condition. Weight loss, exercise, control of diabetes and dyslipidemia are the main line of treatment in children (3). Associated with life style interventions, a number of pharmacological agents such as metformin, vitamin E, omega 3 fatty acid, ursodeoxycholic acid have been shown to have beneficial effects in patients with NAFLD and NASH (4).

Ursodeoxycholic acid (UDCA), with its hepatoprotective and anti-apoptotic effects may be beneficial in the management of steatohepatitis development and progression. Clinical trials in adults have shown that the standard dose of ursodeoxycholic acid (13-15 mg/kg) is ineffective in the treatment of NASH, but higher doses (28-32 mg/kg per day) may have favorable results on transaminase levels (5). Ursodeoxycholic acid action is dose-dependent and higher doses of 20 mg/kg per day had beneficial effects on biochemistry and liver fibrosis in children with primary sclerosing cholangitis or cholestasis in cystic fibrosis (6, 7).

The objective of our study was to evaluate the effects of higher doses (20 mg/kg/day) of ursodeoxycholic acid on liver function parameters and ultrasound in children with non-alcoholic fatty liver disease.

MATERIALS AND METHODS

The study group included 18 children, aged 2.5 to 17 years, with a mean age of 9.39 ± 4.13 , selected from patients diagnosed with non-alcoholic fatty liver, monitored in 2nd Pediatrics Clinic, Emergency

Hospital for Children “St. Maria” Iasi from January 2010-December 2012. Patients were monitored between 8 months and 2 years.

NAFLD was operationally defined as diffuse hyperechogenic liver on ultrasound with persistently abnormal (> 35 IU / L) alanin aminotransferase (ALT) or aspartat aminotransferase (AST), after excluding viral, drug or alcohol induced causes, cholestatic and genetic liver disease. Inclusion criteria were alanine aminotransferase ≥ 50 UI/l and significant ultrasound.

Patients received ursodeoxycholic acid, 20 mg/kg/day in two divided doses, breakfast and evening, for six months. All patients were counseled regarding dietary changes and regular exercise at initial assessment, but no specific dietary measures was been established. Dynamic monitoring was performed by assessment of liver function, blood glucose, lipid profile and ultrasound every 3 months. Metabolic syndrome parameters were appreciated by IDF criteria, 2007 (8). To assess the degree of fibrosis was performed Fibroscan, reference values from adults being considered (9). We quantify changes in hepatic transaminases at the end of treatment. Statistical analysis was performed using SPSS 19. Statistical significance was established for p-value < 0.05 .

RESULTS

Clinical and biological characteristics of patients at the beginning of follow-up are shown in Table 1. The levels of liver enzymes were specific for NASH patients, with moderately elevated aminotransaminase and all patients had an AST/ALT ratio less than 1.

TABLE 1. Patients characteristics at baseline

	Mean/DS	Median	Minimum	Maximum
BMI (kg/m ²)	23.02±6.32	21.79	15.70	34.87
WC (cm)	72.61±20.92	68	43	114
ALT (UI/L)	80.11±33.17	68.5	50	166
AST (UI/L)	52.22±22.63	43	29	101
GGT (UI/L)	49.16±39.34	41.5	11	150
Bilirubin (mg/dl)	0.50±0.19	0.485	0.20	0.87
Glucose (mg/dl)	93.38±11.58	92	76	116
Cholesterol (mg/dl)	168.5±40.88	167.5	114	291
Triglyceride (mg/dl)	117.6±75.01	102.5	43	378
Fibroscan (kPa)	5.66±1.08	5.4	4.3	7.3

In ten patients ALT values ranged from 1.5-2 upper limits of normal values (NV), and eight patients had ALT levels higher than 2xNV. GGT values were over 1.5 x NV in 33.3% patients. In 38.8% of patients, fasting glucose levels were above 100 mg/dl and in 11 patients blood glucose was normal. Two patients were within the parameters of metabolic syndrome, presenting abdominal circumference greater than 90 percentile, fasting glucose ≥ 100 mg/dl, triglycerides ≥ 150 mg/dL and systolic blood pressure over 130 mmHg. At least one component of the metabolic syndrome was present in 61.1% of patients.

Assessing the presence and degree of fibrosis revealed F2 in 2 patients, F1 in 6 patients and F0 in 10 patients. There was a statistically significant correlation between the degree of fibrosis and ALT levels ($p < 0.05$) and AST ($p < 0.01$).

Over the follow-up period, no significant changes were reported in lifestyle. During treatment, body weight remained relatively unchanged. Body mass index varied slightly from baseline, 23.02 ± 6.32 kg/m² vs. 22.71 ± 5.78 kg/m² ($p = 0.12$) after six month.

At the end of treatment with ursodeoxycholic acid was observed a reduction of hepatic transaminases levels. Median (range) of absolute ALT levels was significantly improved from baseline 68.5 (50-166) to 47 (29-104), $p < 0.001$, at 6 months. Average ALT reduction was -27.22 ± 18.56 . ALT levels normalized in 4 of patients at the end of treatment.

Aspartate aminotransferase reduction followed a similar trend to ALT, but in a lesser degree. Median (range) AST varied significantly from 43 (29-101) to 34 (17-75), $p < 0.001$. Average reduction AST was -15.05 ± 11.96 . Ursodeoxycholic acid treatment was also associated with a significant decrease of GGT levels, median ranging from 41.5 (11-150) vs. 22 (8-55), ($p < 0.05$).

Also cholesterol recorded statistically significant changes ($p < 0.01$), the median ranging from 167.5 (114-291) vs. 154.5 (115-239). Cholesterol changes were not correlated with changes in BMI, suggesting that metabolic effects associated with the administration of UDCA can not be attributed to changes in body weight during treatment. There were no significant changes in total bilirubin, alkaline phosphatase, glucose or triglycerides. There were no changes in ultrasound appearance of the patient at the end of 6 months administration of UDCA.

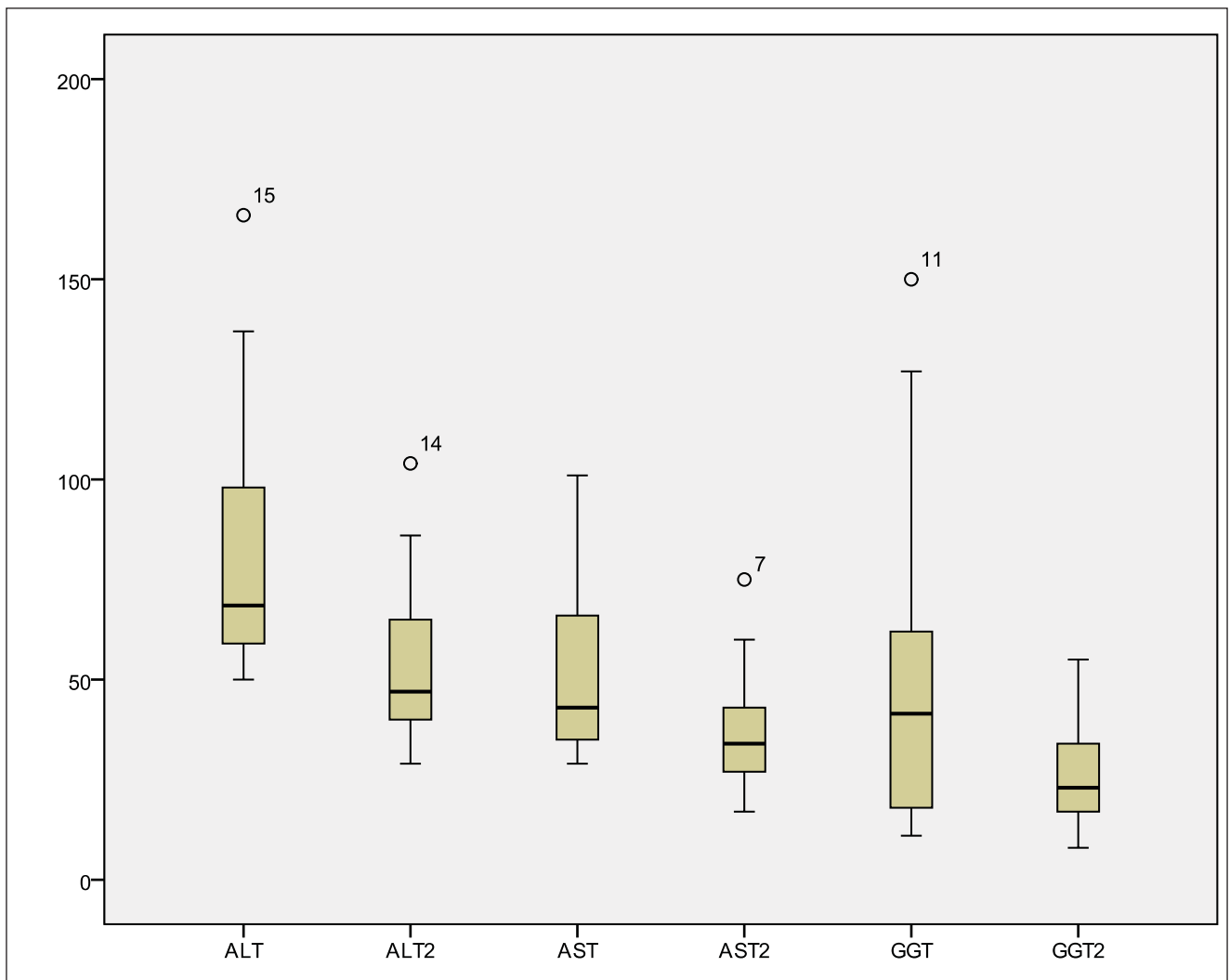


FIGURE 1. Variations in liver enzymes at baseline vs. the end of treatment

DISCUSSIONS

Epidemiological arguments that show an increasing incidence of NAFLD, most often in relation to the unprecedented prevalence of obesity, imposed a pressing need to implement targeted and safe therapies.

Ursodeoxycholic acid is a natural, hydrophilic bile acid, which is about 3% of human bile content, with many hepatoprotective and immunomodulating properties. UDCA stabilizes mitochondrial membranes and reduce the release of hydrolytic enzymes from damaged hepatocytes. Hepatocytes loaded with fat are more susceptible to necrosis and release of reactive oxygen species. In this context, UDCA can improve liver dysfunction and cellular damage caused by oxidative stress in NASH (10). Modulatory effects of anti-apoptotic signaling pathways of UDCA may be a beneficial effect on nonalcoholic steatohepatitis, in which apoptosis was found to be increased (11). In addition, studies have shown that

TNF- α have a significant contribution to the development of insulin resistance and TNF- α serum levels were elevated in patients with NASH. At least in patients with chronic cholestasis, UDCA decreased TNF- α levels associated with improved biological and histological parameters (12).

Administration of ursodeoxycholic acid in our study resulted in a significant decrease in transaminase levels in patients with NAFLD and 22.2% of patients had a normalization of ALT levels. With no biopsy confirmation of steatohepatitis, we considered as a marker of liver injury higher values of ALT, more than 1.5 x upper limits of normal values. In this context we can assume that the reduction in ALT levels may reflect an improvement in liver inflammation. ALT levels are considered representative parameter for assessing liver necroinflammation improvement with predictive value of histological changes. Correlation with BMI changes shows that weight loss was not the cause involved in transaminase reduction. Also, patients

showed a significant decrease in cholesterol levels. Dyslipidemia is recognized as a risk factor in the development of steatosis, lower cholesterol levels could improve the development of fatty liver.

Data on the efficacy of UDCA in NASH are varied and inconsistent. In 1996, Laurin et al. showed, on a group of 24 adults with NASH, that UDCA in doses of 13-15 mg/kg/day resulted in a significant decrease in ALT (-30%), GGT (-45%) levels and also decrease histological grade of steatosis (13). Following, a randomized study in adults, Lindor et al., 2004, showed that treatment with UDCA (13-15mg/kg) versus placebo for 2 years reduced ALT levels in the same degree in both groups. Histological there was only an improvement in steatosis, similar in both groups (14). The study by Dufour et al., 2006, showed significant effects of UDCA combination with vitamin E, but not of UDCA versus placebo. Negative results have raised the question whether high doses of UDCA would benefit in NASH (15). Ratziu et al., 2011, in a randomized study in adults showed that high doses of UDCA (28-35mg/kg) resulted in significantly reductions of transaminases, glucose and insulinemia levels, after one year treatment. The study had not histologically end-point, but an assessment of noninvasive markers of inflammation and fibrosis by Fibrotest, also recorded a significant decrease (5). Another study in adults with histologically tracking point showed that administration of 23-25 mg/day of UDCA has brought improvements in transaminase levels, but these values were not statistically significant compared with the control group. The study showed no improvements in histology after 18 months of treatment (16). Conventional doses of UDCA used on a group of

obese children showed no improvement on transaminase levels or on liver ultrasound appearance (17). In our group of children, higher doses of ursodeoxycholic acid decreased hepatic transaminase levels, although normalization of alanine aminotransferase was only in 22.2% of patients.

There were no serious adverse effects; only discrete abdominal pain or diarrhea, which did not require discontinuation of therapy. Due to the relatively short follow-up, the degree of fibrosis at the end of treatment was not assessed, the probability of significant changes of fibrosis parameters being reduced. Nevertheless, the assessment of fibrosis requires dynamic monitoring due to the progressive nature of non-alcoholic steatohepatitis.

Limitation of this study is the small number of patients. Even if the group is small and there is some heterogeneity of dyslipidemia and BMI parameters, therapeutic effect and safety of UDCA are arguments of using it in children, given that in these patients can not use other pharmacological agents used in adult.

CONCLUSIONS

Higher doses of ursodeoxycholic acid may have beneficial effects in the treatment of chronic liver disease in children with non-alcoholic steatohepatitis. A more detailed analysis in randomized controlled trials of the effects of high-dose ursodeoxycholic acid in pediatric non-alcoholic fatty liver could get additional data on its indications for children treatment. Also, studies are needed to monitor metabolic changes associated to inflammation to define different mechanisms of action.

REFERENCES

1. Schwimmer J.B., Deutsch R., Kahen T., Lavine J.E., Stanley C., Behling C. – Prevalence of fatty liver disease in children and adolescents. *Pediatrics* 2006;118:1388–93.
2. Brunt E.M. – Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2010;7, 195–203.
3. Nobili V., Carter-Kent C., Feldstein A.E. – The role of lifestyle changes in the management of chronic liver disease. *BMC Med* 2011;9:70.
4. Socha P., Horvath A., Vajro P., Dziechciarz P., Dhawan A., Szajewska H. – Pharmacological interventions for nonalcoholic fatty liver disease in adults and in children: a systematic review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;48(5):587-96
5. Ratziu V., de Ledinghen V., Oberti F. et al. – A randomized controlled trial of high-dose ursodeoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2011;54(5):1011-19.
6. Harnois D.M., Angulo P., Jorgensen R.A., Larusso N.F., Lindor K.D. – High-dose ursodeoxycholic acid as a therapy for patients with primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:1558–1562
7. van de Meeberg P.C., Houwen R.H., Sinaasappel M., Heijerman H.G., Bijleveld C.M., Vanberge-Henegouwen G.P. – Low-dose versus high-dose ursodeoxycholic acid in cystic fibrosis-related cholestatic liver disease. Results of a randomized study with 1-year follow-up. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:369–373
8. Zimmet P., Alberti K.G., Kaufman F., Tajima N., Silink M., Arslanian S., Wong G., Bennett P., Shaw J., Caprio S. – IDF Consensus Group. The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes.* 2007;8(5):299-306.
9. de Ledinghen V., Vergniol J. – Transient elastography (FibroScan). *Gastroenterol Clin Biol.* 2008;32(6 Suppl 1):58-67.
10. Lapenna D., Ciofani G., Festi D., Neri M., Pierdomenico S.D., Giamberardino M.A., et al. – Antioxidant properties of ursodeoxycholic acid. *Biochem Pharmacol* 2002;64:1661–1667.
11. Rodrigues C.M., Fan G., Ma X., Kren B.T., Steer C.J. – A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest* 1998;101:2790-2799.

12. Neuman M., Angulo P., Malkiewicz I., et al. – Tumor necrosis factor α and transforming growth factor-beta reflect severity of liver damage in primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17:196–202.
13. Laurin J., Lindor K.D., Crippin J.S., Gossard A., Gores G.J., Ludwig J., et al. – Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology* 1996; 23:1464–1467.
14. Lindor K.D., Kowdley K.V., Heathcote E.J., Harrison M.E., Jorgensen R., Angulo P., et al. – Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology* 2004; 39:770-778.
15. Dufour J.F., Oneta C.M., Gonvers J.J., Bihl F., Cerny A., Cereda J.M., et al. – Randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid with vitamin E in nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4: 1537-1543.
16. Leuschner U., Lindenthal B., Herrman G., Arnold J.C., Rossle M., Cordes H.J., et al. – High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology* 2010;52:472–479.
17. Vajro P., Franzese A., Valerio G., Iannucci M.P., Aragione N. – Lack of efficacy of ursodeoxycholic acid for the treatment of liver abnormalities in obese children. *J Pediatr* 2000, 136:739-743.