

Faculté de Médecine

Année 2023

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

Le 20 septembre 2023

Par Léa LE DU

Isoformes de l'albumine et évolution de la fibrose hépatique

Thèse dirigée par le Docteur Paul CARRIER

Examineurs :

Mme. Le **Professeur Véronique LOUSTAUD-RATTI**

M. Le **Professeur Jérémie JACQUES**

M. Le **Professeur Jean-Baptiste WOILLARD**

M. Le **Docteur Souleiman EL BALKHI**

M. Le **Docteur Paul CARRIER**

Présidente du Jury

Juge

Juge

Juge

Directeur de thèse



Faculté de Médecine

Année 2023

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

Le 20 septembre 2023

Par Léa LE DU

Isoformes de l'albumine et évolution de la fibrose hépatique

Thèse dirigée par le **Docteur Paul CARRIER**

Examineurs :

Mme. Le **Professeur Véronique LOUSTAUD-RATTI**

M. Le **Professeur Jérémie JACQUES**

M. Le **Professeur Jean-Baptiste WOILLARD**

M. Le **Docteur Souleiman EL BALKHI**

M. Le **Docteur Paul CARRIER**

Présidente du Jury

Juge

Juge

Juge

Directeur de thèse



Doyen de la Faculté

Monsieur le Professeur **Pierre-Yves ROBERT**

Assesseurs

Madame le Professeur **Marie-Cécile PLOY**

Monsieur le Professeur **Jacques MONTEIL**

Monsieur le Professeur **Laurent FOURCADE**

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

ABOYANS Victor	CARDIOLOGIE
ACHARD Jean-Michel	PHYSIOLOGIE
AJZENBERG Daniel	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
ALAIN Sophie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
AUBARD Yves	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
AUBRY Karine	O.R.L.
BALLOUHEY Quentin	CHIRURGIE INFANTILE
BERTIN Philippe	THERAPEUTIQUE
BOURTHOUMIEU Sylvie	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE
CAIRE François	NEUROCHIRURGIE
CHRISTOU Niki	CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE
CLAVERE Pierre	RADIOTHERAPIE
CLEMENT Jean-Pierre	PSYCHIATRIE D'ADULTES
CORNU Elisabeth	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE
COURATIER Philippe	NEUROLOGIE
DAVIET Jean-Christophe	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
DESCAZEAUD Aurélien	UROLOGIE

DRUET-CABANAC Michel	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL
DURAND Karine	BIOLOGIE CELLULAIRE
DURAND-FONTANIER Sylvaine	ANATOMIE (CHIRURGIE DIGESTIVE)
FAUCHAIS Anne-Laure	MEDECINE INTERNE
FAUCHER Jean-François	MALADIES INFECTIEUSES
FAVREAU Frédéric	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
FEUILLARD Jean	HEMATOLOGIE
FOURCADE Laurent	CHIRURGIE INFANTILE
GAUTHIER Tristan	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
GUIGONIS Vincent	PEDIATRIE
HANTZ Sébastien	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
HOUETO Jean-Luc	NEUROLOGIE
JACCARD Arnaud	HEMATOLOGIE
JACQUES Jérémie	GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE
JAUBERTEAU-MARCHAN M. Odile	IMMUNOLOGIE
JESUS Pierre	NUTRITION
JOUAN Jérôme	CHIRURGIE THORACIQUE ET VASCULAIRE
LABROUSSE François	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
LACROIX Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
LAROCHE Marie-Laure	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
LOUSTAUD-RATTI Véronique	HEPATOLOGIE
LY Kim	MEDECINE INTERNE
MAGNE Julien	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
MAGY Laurent	NEUROLOGIE
MARCHEIX Pierre-Sylvain	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE
MARQUET Pierre	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

MATHONNET Muriel	CHIRURGIE DIGESTIVE
MELLONI Boris	PNEUMOLOGIE
MOHTY Dania	CARDIOLOGIE
MONTEIL Jacques	BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
MOUNAYER Charbel	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
NUBUKPO Philippe	ADDICTOLOGIE
OLLIAC Bertrand	PEDOPSYCHIATRIE
PARAF François	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE
PLOY Marie-Cécile	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
PREUX Pierre-Marie	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
ROBERT Pierre-Yves	OPHTALMOLOGIE
ROUCHAUD Aymeric	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
SALLE Jean-Yves	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
STURTZ Franck	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
TCHALLA Achille	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES
TOURE Fatouma	NEPHROLOGIE
VALLEIX Denis	ANATOMIE
VERGNENEGRE Alain	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
VERGNE-SALLE Pascale	THERAPEUTIQUE
VIGNON Philippe	REANIMATION
VINCENT François	PHYSIOLOGIE
YARDIN Catherine	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE

Professeurs Associés des Universités à mi-temps des disciplines médicales

BRIE Joël	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE
------------------	-------------------------------------------

Professeur des Universités de Médecine Générale

DUMOITIER Nathalie (Responsable du département de Médecine Générale)

Professeur associé des Universités à mi-temps de Médecine Générale

HOUDARD Gaëtan (du 01-09-2019 au 31-08-2025)

Maitres de Conférences associés à mi-temps de médecine générale

BUREAU-YNIESTA Coralie (du 01-09-2022 au 31-08-2025)

LAUCHET Nadège (du 01-09-2020 au 31-08-2023)

SEVE Léa (du 01-09-2021 au 31-08-2024)

Professeurs Emérites

ADENIS Jean-Paul du 01-09-2017 au 31-08-2021

ALDIGIER Jean-Claude du 01-09-2018 au 31-08-2022

BESSEDE Jean-Pierre du 01-09-2018 au 31-08-2022

BUCHON Daniel du 01-09-2019 au 31-08-2022

DARDE Marie-Laure du 01-09-2021 au 31-08-2023

DESSPORT Jean-Claude du 01-09-2020 au 31-08-2022

MABIT Christian du 01-09-2022 au 31-08-2024

MERLE Louis du 01-09-2017 au 31-08-2022

MOREAU Jean-Jacques du 01-09-2019 au 31-08-2023

NATHAN-DENIZOT Nathalie du 01-09-2022 au 31-08-2024

TREVES Richard du 01-09-2021 au 31-08-2023

TUBIANA-MATHIEU Nicole du 01-09-2018 au 31-08-2021

VALLAT Jean-Michel du 01-09-2019 au 31-08-2023

VIROT Patrice du 01-09-2021 au 31-08-2023

Assistants Hospitaliers Universitaires

ABDALLAH Sahar	ANESTHESIE REANIMATION
APPOURCHAUX Evan	ANATOMIE CHIRURGIE DIGESTIVE
BUSQUET Clémence	HEMATOLOGIE
CHAZELAS Pauline	BIOCHIMIE
LABRIFFE Marc	PHARMACOLOGIE
LADES Guillaume	BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
LOPEZ Stéphanie	MEDECINE NUCLEAIRE
MARTIN ép. DE VAULX Laury	ANESTHESIE REANIMATION
MEYER Sylvain	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE HYGIENE
MONTMAGNON Noëlie	ANESTHESIE REANIMATION
PLATEKER Olivier	ANESTHESIE REANIMATION
ROUX-DAVID Alexia	ANATOMIE CHIRURGIE DIGESTIVE
SERVASIER Lisa	CHIRURGIE OPTHOPEDIQUE

Chefs de Clinique – Assistants des Hôpitaux

ABDELKAFI Ezedin	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE
AGUADO Benoît	PNEUMOLOGIE
ALBOUYS Jérémie	HEPATO GASTRO ENTEROLOGIE
ASLANBEKOVA Natella	MEDECINE INTERNE
BAUDOUIN Maxime	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
BEAUJOUAN Florent	CHIRURGIE UROLOGIQUE
BLANCHET Aloïse	MEDECINE D'URGENCE
BLANQUART Anne-Laure	PEDIATRIE (REA)
BOGEY Clément	RADIOLOGIE

BONILLA Anthony	PSYCHIATRIE
BOSCHER Julien	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
BURGUIERE Loïc	SOINS PALLIATIFS
CHASTAINGT Lucie	MEDECINE VASCULAIRE
CHAUBARD Sammara	HEMATOLOGIE
CHROSCIANY Sacha	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE
COLLIN Rémi	HEPATO GASTRO ENTEROLOGIE
COUMES-SALOMON Camille	PNEUMOLOGIE ALLERGOLOGIE
CURUMTHAULEE Faiz	OPHTALMOLOGIE
DARBAS Tiffany	ONCOLOGIE MEDICALE
DU FAYET DE LA TOUR Anaïs	MEDECINE LEGALE
DUPIRE Nicolas	CARDIOLOGIE
FESTOU Benjamin	MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES
FORESTIER Géraud	RADIOLOGIE
FRACHET Simon	NEUROLOGIE
GIOVARA Robin	CHIRURGIE INFANTILE
LADRAT Céline	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
LAGOUEYTE Benoit	ORL
LAPLACE Benjamin	PSYCHIATRIE
LEMACON Camille	RHUMATOLOGIE
MEYNARD Alexandre	NEUROCHIRURGIE
MOI BERTOLO Emilie	DERMATOLOGIE
MOHAND O'AMAR ép. DARI Nadia	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
NASSER Yara	ENDOCRINOLOGIE
PAGES Esther	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE
PARREAU Simon	MEDECINE INTERNE

RATTI Nina	MEDECINE INTERNE
ROCHER Maxime	OPHTALMOLOGIE
SALLEE Camille	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
SEGUY ép. REBIERE Marion	MEDECINE GERIATRIQUE
THEVENOT Bertrand	PEDOPSYCHIATRIE
TORDJMAN Alix	GYNECOLOGIE MEDICALE
TRAN Gia Van	NEUROCHIRURGIE
VERNAT-TABARLY Odile	OPHTALMOLOGIE

Chefs de Clinique – Médecine Générale

BOURGAIN Clément
HERAULT Kévin
RUDELLE Karen

Praticiens Hospitaliers Universitaires

HARDY Jérémie	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE
LAFON Thomas	MEDECINE D'URGENCE
TRICARD Jérémy	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE MEDECINE VASCULAIRE

Remerciements

Au Professeur Véronique Loustaud-Ratti.

Nous avons la chance de pouvoir bénéficier dans le service de votre expertise en hépatologie et en médecine interne. Je vous remercie de la confiance que vous m'avez toujours accordée que ce soit dans la prise en charge de vos patients comme pour ce travail.

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury.

Au Professeur Jérémie Jacques.

Pour les internes, tu es un exemple de dynamisme et de travail mais tu restes toujours disponible. Tu nous pousse toujours à la rigueur et à nous dépasser, car le patient passe en premier. Et j'espère avoir copié de toi bien plus que ta démarche de sabots.

Je suis honorée de ta présence dans ce jury afin de juger ce travail.

Au Professeur Jean-Baptiste Woillard.

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

Recevez par ce travail le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au Docteur Souleiman El Balkhi.

Cette thèse est une petite pierre au grand édifice en projet. J'espère en avoir fait honneur. Merci pour la disponibilité et la bienveillance dont vous avez fait preuve tout au long de ce travail.

Je vous suis reconnaissante pour avoir accepté de le juger.

Au Docteur Paul Carrier.

Un remerciement semblable à une bouteille à la mer mais sait-on jamais ... Merci pour le soutien durant toute la thèse, de votre immense disponibilité et des nombreuses relectures entre deux biberons. Je resterai toujours impressionnée par votre culture même en dehors des frontières de la médecine.

Au Professeur Denis Sautereau. Merci pour ces premières colos du lundi, dont j'ai eu la chance de pouvoir bénéficier, ainsi que des nombreux conseils, que je n'oublie pas.

Au Docteur Anne Le Sidaner. Je suis admirative de la patience et de l'écoute dont vous faites preuve chaque jour avec vos patients, parfois compliqués. Merci pour ce beau canapé, très utile en post prandial.

Au Docteur Marilyne Gratien. Merci pour l'expertise en hépatologie et notamment en transplantation hépatique que vous apportez au service.

Au Docteur Roger Daloko. Qui sait rester d'un calme olympien en toutes circonstances.

Au Docteur Virginie Valgueblasse. En faisant preuve d'une oreille attentive, tu sais nous faire relativiser bien des situations.

Au Docteur Romain Legros. Avec la rigueur que tu nous imposes, tu cherches à nous faire progresser, que ce soit sur le plan théorique ou endoscopique, toujours avec un humour, parfois un peu piquant, mais toujours juste. Et grâce à toi je sais que le père Noël nous observe.

Au Docteur Sophie Geyl. Dont je redoute le regard noir (celui où on comprend qu'on a merdé, oups) autant que j'admire son shooter à connaissances, témoin de sa passion pour les diagnostics rares, et sa façon de raconter ses anecdotes.

Au Docteur Hugo Lepetit. Dont les coronaires ont été mises à rudes épreuves pendant les plannings de Saint Junien, dues aux nombreux côlons sans bas fond caecal.

Au Docteur Jérémie Albouys. Pour qui son clinicat aura duré le temps de mon internat. Malgré les circonstances tu restes toujours de bonne humeur, disponible et en total self control comme en témoignage ta phrase favorite : « Tout est sous contrôle ».

Au Docteur Rébecca Rodrigues. Exemple pour moi de rigueur, dans la même team « coche à cocher ». Encore plusieurs trajets jusqu'à Guéret à partager, j'espère ne pas trop t'empêcher de chanter.

Au Docteur Clémentine Brulé. Un plaisir de travailler avec toi, dans le rire et la bonne humeur, comme en témoigne le semestre de Saint Ju'.

Au Docteur Pierre Bordillon. Initialement mon co-interne, j'ai sûrement dû te voir parcourir 3 fois le tour de la planète lors de tes avis téléphoniques. Je resterai toujours impressionnée par cette capacité à retenir tous les prénoms des patients.

Au Docteur Alicia Annereaud. Merci du soutien apporté tout au long de mon internat.

Au Docteur Benjamin Redelsperger. Un plaisir d'avoir partagé tous ses semestres. Merci de ne pas m'avoir laissé dormir à la rue quand je fais du grand Léa. Ses beaux fonds d'écran vont me manquer.

Au Docteur Clément Juglard. Je suis contente de venir compléter l'équipe de Guéret. Merci pour ce semestre qui me permet d'acquérir de l'autonomie avant le grand saut.

Au Docteur Rémi Collin. Qui apporte de la couleur à nos courriers.

Au Docteur Anne Laure Burgevin. Merci pour ce semestre corrézien, où j'ai appris qu'on pouvait rester zen en toutes circonstances.

Au Docteur Martin Dahan. Au plaisir de te revoir sur un spot de kite

Au Docteur Claire Ginestet. Merci pour ta gentillesse dont tu as su faire preuve à mon égard durant mon premier semestre.

Au Docteur Morgane Chalange et Au Docteur Amélie Labonde, j'espère que chacune d'entre vous s'épanouie dans sa nouvelle vie.

A tous les chefs de Rennes et notamment le **Pr Guillaume Bouguen** et le **Dr Marie Dewitte**, pour ce semestre breton, dans la joie et la bonne humeur, qui m'a tant apporté notamment en MICI.

Aux ARC, **Sandrine** et **Céline**, et **Roy**, merci pour l'aide et la disponibilité apportées durant ce projet.

A mes cointernes. Nos journées de travail ne sont pas toujours (rarement) un long fleuve tranquille, mais grâce à votre bonne humeur et votre humour contagieux, qui règnent dans notre grand open space, venir le matin est plus facile. **A Carlotta**, binôme de promo, et pourtant un seul stage en ta compagnie, mais toujours un plaisir et cela n'empêche pas de partager les derniers potins du service. **A Safia**, Souvent qualifiée de princesse, je te vois également combattante prête à affronter toutes les situations. **A Imane.** Modèle de rigueur à toute épreuve, tu fais également preuve d'une oreille attentive. Je ne me lasse pas de ton humour en punchline. **A La beuch.** Merci pour cette gentillesse, ça fait quand même partie du travail. Et je persiste toujours à penser que je peux te mettre au sol lors d'un octogone ! **A Paul.** J'attends toujours de pouvoir te battre sur un terrain de tennis. Et promis, je vais essayer de me greffer du second degré. **Au Heusse.** Encore tous mes vœux de bonheur. J'espère que tu ne seras pas trop impertinent lors des contre-visites. **A Marie.** Calme et bienveillante, un plaisir de travailler avec toi. **A Mathilde.** D'abord mon externe, bienvenue dans l'équipe. **A Charles.** Un humour de beauf qui permet souvent de cacher son stress. **A Geoffrey.** Au plaisir de te connaître davantage. **A Laurène.** La plus gastro des chirurgiens digestifs. Je dois encore prendre une revanche sur la terre battue. **A Marina.** Un plaisir d'avoir partagé ce semestre avec toi. Je ne doute pas sur le fait que tu feras une super gastro-pédiatre.

Aux interchus : **Juliette, Sowaifi, Guillaume « Le Vidal », Léonard et Thomas,** j'espère que vous avez apprécié vos stages en terre Limougeaude, pour nous ça été un plaisir.

A mes cointernes de Rennes (Estelle, Aurore, Léna, Justine, Léa, Romane, Jeanne, Lise, Oumnia, Théo, Sébastien, Pierre, Marc) merci pour votre accueil chaleureux en terre

Bretonne, ces apéros et les parties de squash. Vous avez su faire honneur à la réputation des Bretons !

A toutes **les équipes des services de Limoges, Brive, Saint Ju', Guéret et Rennes**, merci pour tout, notamment de nous supporter aux quotidiens et de votre bienveillance envers les patients. Petite pensée pour l'équipe de Saint Ju', merci pour ses gâteaux dignes des plus grands chefs. Mes 5 kilos en trop vous remercient. Courage à toutes les secrétaires pour mes futurs courriers, je sais que vous en raffolez.

Aux copains de toujours (Céline, Ophélie, Marie, Morane, Antonin, Hélyory, Paul, Martin). Nous fêterons bientôt la majorité de notre amitié, et pourtant je ne me lasse jamais de nos retrouvailles, malheureusement pas aussi fréquentes qu'espérées. Mais je ne doute pas qu'il nous reste encore pas mal d'apéro-plage, de soirées années 90', de voyages, de sessions de surf à Lacanau et de ski (je te le promets Martin un jour ça arrivera) ... en perspective. Et une mention particulière à Marie pour ce soutien en fin de thèse et son aide, pour la dinosaure de l'informatique que je suis.

Aux Coqueens (Anne-Claire, Camille, Coralie, Laure, Lucie, Mallaury, même s'il n'est pas vraiment nécessaire de les nommer) Malgré la diaspora post internat, vous restez présentes au quotidien. Merci pour le soutien indéfectible et le réconfort dont vous faites preuve lors des appels « OSCOUR ». Toujours prête pour une de vos petites histoires qui me font mourir de rire. J'attends avec impatience notre prochaine aventure, reste plus qu'à trouver la destination (et la date). Et on sera toujours LÀ !

Aux cousins-cousines (Clémentine, Quentin, Valentin, Baptiste, Lucas, Philippine, Salam, Joanne, Maëlle, Sarah), **A mes oncles et tantes** (Vincent, Vava, Pascale et Fred), merci pour toutes ses cousinades, c'est toujours un plaisir d'être avec vous. Les moments difficiles ont prouvé la solidité de notre famille. Merci à Vincent et Vava, pour l'accueil à Ascoux lors des coups de blues ; A Clé et Joanne, chez qui une chambre, enfin LA chambre est toujours prête en cas de besoin et qui acceptent d'écouter mes monologues interminables ; Val malgré ta vie de baroudeur, tu finis toujours par m'héberger. Ces nombreux voyages ont été littéralement un plaisir et promis un jour je dominerai ma peur pour faire mes premiers sauts.

A **Danièle et Marc**, et aux cousines **Céline, Guillemette et Yves** : Bien que la distance géographique nous ait séparés, les moments passés ensemble restent un plaisir.

A mes grands-parents, j'espère que vous auriez été fière. **A mamie 'quine**, tes souvenirs s'envolent progressivement mais nous ne t'oublions pas.

A mon petit **Mathis**, déjà devenu grand ! Neveu adoré, tu es la définition même de la joie de vivre. Ne change pas.

A mes 2 sœurs. Je suis si fière d'être votre petite sœur. **Morgane**, je suis admirative du courage dont tu as fait preuve pour partir à l'autre bout du globe pour mener à bien ton rêve d'une vie au paradis. Et même si tu vis une journée en avance sur nous, tu es toujours là pour moi grâce à ton écoute attentive et tes bons conseils. Prépare-toi j'ARRIVE ! **Chloé**, quelle Wonder Woman es-tu devenue ! et le petit Mathis en est la preuve. Toujours présente pour m'aider quand je me noie dans un verre d'eau ou à m'accueillir en vacances.

A mes parents. Le dernier remerciement et peut être le plus compliqué, comme vous le savez, exprimer mes émotions n'est pas ma plus grande force. Merci d'être toujours là pour moi et malgré la distance, vous restez le pilier sur lequel je peux me reposer. Toujours de bon conseil, vous savez me faire relativiser. Pour nous trois, vous êtes un model que ce soit dans votre vie personnelle que professionnelle. Trente-sept ans après vous, c'est à mon tour de prêter serment. J'espère que vous serez fiers. Je vous aime.

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Liste des abréviations

ACN: Acetonitrile
ACLF: Acute liver failure
AIH: Auto-immune hepatitis
ALAT: Alanine aminotransferase
ALP: Alkaline phosphatase
ARFI: Acoustic radiation force impulse
AST : Asparate aminotransferase
Au: Auride
BILID : Bilirubin direct
BILIT : Bilirubin total
Cd : Cadmium
CHC: Carcinome hépatocellulaire
CP : Child Pugh
Cu : Copper
CUR : Curtain gas
DILI : Drug-induced liver injury
DP: Declustering potential
Ds: Darmstadtium
EASL: European Association for the Study of the liver
FDA: Food and drug administration
GGT: Gamma-glutamyl transferases
GLDH: Glutamate déshydrogénase
Gs: Ion source gas
HAS : Human serum albumin
HAS-CYS : Reversibly oxidized isoform
HAS-CYS-GLYSx2: Cysteinylated and glycosylated isoform
HAS-DA: N-terminal truncated isoform
HAS-SO3H: Irreversibly cysteinylated isoform
HBV : Hepatitis B virus
HCV : Hepatitis C virus
HGF : Facteur de croissance hépatique
HMA : Mercaptoalbumine humaine
HMGB1: High-mobility group box-1
HNA1 : Non-mercaptoalbumine 1
HNA2 : Non-mercaptoalbumine 2
IMA : Albumine modifiée par ischémie
INR : International normalized ratio
INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale
IQR/M: Interquartile/median
K18: Kératine 18
LBD: Bile duct ligation
LDH: Lactate dehydrogenase
LRE: Liver related events
L-T4: Free thyroxine
Lymphocytes NK: Lymphocytes natural killer

MASLD: Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease
MELD: Model for End-Stage Liver Disease
MiARN 122 : Micro-ARN 122
MMP-1 : Métalloprotéinase 1 de matrice
NAFLD: Non alcoholic fatty liver disease
NASH : Stéatohépatite non alcoolique
NS: Not suitable
NO: Monoxyde d'azote
PBC : Primary biliary cholangitis
PCA : Principal component analysis
PIIINP : Collagène sérique de type III
PSC : Primary sclerosing cholangitis
PTM : Post-transcriptional modifications
RNS : Réactif de l'azote
ROS : Réactif de l'oxygène
SDH: Sorbitol dehydrogenase
SEM: Standard error of the mean
TIPS: Transjugular intrahepatic portosystemic shunt
TP: Taux de Prothrombine
UNOS: United network for organ sharing

Table des matières

Introduction	28
I. Fibrose hépatique et cirrhose	29
I.1. Définition.....	29
I.2. Epidémiologie	29
I.3. Physiopathologie de la fibrose et de la cirrhose	29
I.4. Etiologies de la fibrose et de la cirrhose	31
I.5. Les complications de la cirrhose	31
I.5.1. Les complications liées à l'hypertension portale	31
I.5.2. Encéphalopathie hépatique	33
I.5.3. Le carcinome hépatocellulaire	34
I.6. Evaluation de la fibrose hépatique	34
I.6.1. Biopsie hépatique	34
I.6.2. Tests non invasifs.....	35
I.6.2.1. Tests non invasifs biologiques	35
I.6.2.2. Tests non-invasifs basés sur l'élastométrie impulsionnelle	35
I.6.2.3. Test basés sur des combinaisons	36
I.6.3. Limites et avantages des tests.....	36
I.6.4. En pratique	36
I.7. Score de gravité de la cirrhose.....	37
I.7.1. Score CHILD PUGH TURCOTTE	37
I.7.2. Score MELD	38
I.7.3. Score ALBI	39
I.7.4. Score de D'Amico ou EASL	39
II. Albumine	40
II.1. Carte d'identité	40
II.2. Rôles et fonctions	40
II.3. Modification chimique.....	40
II.4. Biomarqueurs de l'hépatotoxicité	41
II.4.1. Alanine aminotransférase	42
II.4.2. Glutamate déshydrogénase.....	42
II.4.3. Kératine 18.....	42
II.4.4. Micro-ARN 122.....	42
II.5. Rôle dans les maladies du foie	42
II.5.1. Rôle pronostique	42
II.5.2. Rôle thérapeutique	43
II.5.3. Albumine extra-vasculaire	43
III. Albumin isoforms and the evolution of liver fibrosis.....	44
III.1. Introduction	44
III.2. Materials and methods.....	44
HAS isoforms determination	46
III.3. Results.....	48
III.4. Discussion	53
IV. Conclusion	56
Références bibliographiques	57

Table des illustrations

Figure 1: Lobule hépatique.....	30
Figure 2: Fibrose hépatique.....	30
Figure 3: Hypertension portale	32
Figure 4 - Average native albumin concentration (g/L) as a function of fibrosis stage.....	50
Figure 5 - Average isoform albumin concentration (g/L) as a function of fibrosis stage.....	52
Figure 6 - Ratio concentration of oxidized albumin isoform normalized to native albumin as a function of fibrosis stage.....	52
Figure 7 - Principal component analysis (PCA) of isoform profile by fibrosis stage.....	53

Table des tableaux

Tableau 1: Score de CHILD PUGH TURCOTTE	37
Tableau 2 - Population's characteristics	49
Tableau 3 - Diagnostic's method	50

Introduction

Les maladies hépatiques, du fait de leur fréquence et de leur chronicité, peuvent se compliquer de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire (CHC) et sont un enjeu majeur de santé publique dans le monde. Les traitements étiologiques ont une efficacité variable et les complications liées à l'hypertension portale, l'insuffisance hépatique ou le CHC sont responsables d'une morbi-mortalité élevée. La prévention d'une part, et le contrôle de l'évolution sous traitement d'autre part des pathologies chroniques du foie sont peu efficaces en comparaison à d'autres maladies chroniques néoplasiques ou cardiovasculaires par exemple. Ainsi, la mortalité de la cirrhose augmente quand celle des autres pathologies chroniques diminue [1].

Prédire et anticiper le risque évolutif de ces maladies, notamment en déterminant le degré de sévérité de la fibrose est un véritable enjeu. L'histologie reste un gold-standard imparfait et expose à des complications liées au prélèvement. En alternative, ont été développés ces dernières années, des tests indirects, basés sur des marqueurs biologiques ou mécaniques comme la mesure de l'élasticité hépatique, avec possibilité de tests combinés. Ces tests pronostiques présentent des limites claires en termes de précision diagnostique.

Il faut donc explorer d'autres voies pour estimer l'avancée de la maladie hépatique, afin de pouvoir prédire précocement son évolutivité. Nous avons ciblé un marqueur inédit et innovant, l'étude qualitative de l'albumine, protéine produite par le foie et altérée en cas d'atteinte hépatique. Nous avons cherché à déterminer le lien entre les modifications structurelles de l'albumine et l'avancée de la maladie hépatique.

I. Fibrose hépatique et cirrhose

I.1. Définition

La fibrose hépatique est le résultat d'une cicatrisation excessive du foie en réponse à une agression. Elle correspond à un dépôt anormal de tissu conjonctif dans le foie. La cirrhose est la forme la plus avancée et sévère de fibrose, caractérisée histologiquement par une fibrose associée à des nodules de régénération. Cette altération entraîne une diminution de la fonction hépatocytaire [2]. Le terme de fibrose hépatique sévère compensée a été proposé par la conférence de Baveno VI pour remplacer le terme de cirrhose, qui reste cependant largement employé par les professionnels et par le grand public [3].

I.2. Epidémiologie

La cirrhose et ses complications représente la 5ème cause de mortalité en France, avec 10 000 à 15 000 décès chaque année [4].

En France, selon l'InVS, en 2017, environ 200 000 personnes étaient atteintes de cirrhose, dont 30% à un stade sévère. Environ 55 000 hospitalisations par an sont nécessaires à sa prise en charge globale ce qui mobilise jusqu'à 15% des activités des services spécialisés [5].

Plus récemment, des données épidémiologiques, basées sur des examens non-invasifs ont été obtenues. Elles montrent que dans une population générale une fibrose avancée peut être décelée chez environ 5% des personnes testées au moyen de l'élastométrie hépatique, évaluée par FibroScan^R [6] – [9]. Ce pourcentage est de 2,8% lorsque le dépistage est réalisé par FibroTest^R [10]. Ces données sont importantes, car elles sont prédictives d'événements « liés au foie » dont la mortalité [11].

I.3. Physiopathologie de la fibrose et de la cirrhose

Du fait de ses fonctions, le foie est un organe vital. Il joue un rôle dans le métabolisme des glucides en réalisant la néoglucogénèse ou la glycogénolyse, la synthèse de protéines (l'albumine, les lipoprotéines, les facteurs de la coagulation, les globines ...), la synthèse des lipides (les apolipoprotéines A, B, C, E, le cholestérol, les acides biliaires) et le métabolisme des xénobiotiques.

Dans toutes les hépatopathies chroniques, quelle que soit leur étiologie, la fibrose est induite par une agression hépatobiliaire et/ou une inflammation. Il existe une accumulation anormale de fibrose dans la matrice extra cellulaire témoignant d'une « cicatrisation » excessive face à l'agression. Elle résulte d'un déséquilibre entre une majoration de la fibrinogénèse, par les myofibroblastes et une diminution de la fibrinolyse [12]. Dans un foie normal, la matrice extra-cellulaire est limitée à la capsule, aux espaces portes, où elle entoure les gros vaisseaux. Dans le cadre des hépatopathies virales, métaboliques ou biliaires, le point de départ de la fibrose est péri-portal, contrairement à celui des hépatopathies alcooliques ou médicamenteuses, qui est plutôt centro-lobulaire. La composition moléculaire de la matrice extra-cellulaire est équivalente, quelle que soit l'étiologie.

Le tissu hépatique normal comporte une composante épithéliale, représentée par les hépatocytes et les cellules biliaires, un réseau vasculaire sinusoidal constitué par les cellules endothéliales, associées aux macrophages tissulaires ou cellules de Kupffer, et des cellules périvasculaires mésenchymateuses appelées cellules étoilées. L'espace entre les hépatocytes et les cellules endothéliales, appelé espace de Disse ou péricapillaire, contient

également une matrice extracellulaire qui fait fonction de membrane basale et joue un rôle important dans le fonctionnement du tissu hépatique. La fibrose hépatique est due à la modification qualitative et quantitative de la composition de cette matrice extracellulaire [13].

La cellule étoilée du foie, issue des cellules mésothéliales, est située dans l'espace de Disse (espace péri-capillaires, entre un hépatocyte et un sinusoïde) ; elle représente 10% des cellules du foie. Elle est cependant le « centre de contrôle » de la fibrose [14]. A l'état normal, quiescente, elle stocke la vitamine A et des antigènes lipidiques. Elle est activée par un stimulus pro-fibrotique, lui permettant de se différencier, en myofibroblastes. Elle peut alors proliférer, se contracter, libérer des chemotaxis et générer des signaux de l'inflammation [4]. Lors du retour à une situation normale avec arrêt des stimuli pro-fibrosants, les cellules étoilées peuvent initier l'apoptose ou reviennent à un état inactif [15].

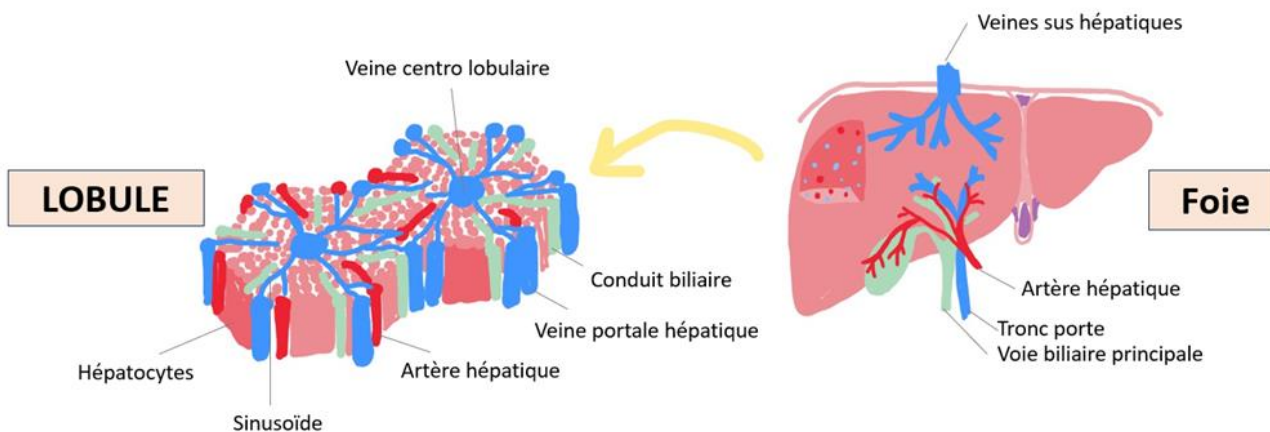


Figure 1: Lobule hépatique

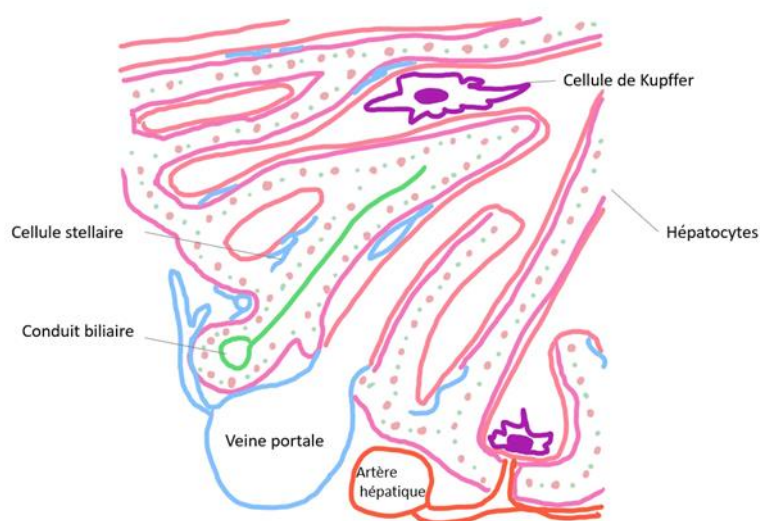


Figure 2: Fibrose hépatique

La cirrhose est le stade ultime de la fibrose responsable d'une modification de l'architecture et de la perte des fonctions vitales hépatiques. Cependant, le dogme historique de l'irréversibilité de la fibrose de la cirrhose a été récemment remis en cause. En effet, dans certaines situations, après prise en charge du facteur étiologique, la fibrose peut régresser [13][16].

I.4. Etiologies de la fibrose et de la cirrhose

Les étiologies, de la fibrose et de la cirrhose, sont multiples. L'association de plusieurs causes chez un même patient accélère son évolution [17].

Les facteurs de risques sont divisés en grandes catégories [18] :

- La consommation chronique d'alcool est le facteur de risque le plus fréquent
- Les infections virales (hépatite C chronique, Hépatite B chronique possiblement associée à une coinfection delta)
- Les causes métaboliques : la stéatohépatite métabolique (regroupant désormais selon la dernière nomenclature EASL la MASLD metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, MASH : Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, et la MetALD (ou MASH et consommation excessive d'alcool)) surtout, de plus en plus fréquente ou, plus rarement, la glycogénose de type IV, la tyrosinémie de type I ...) qui se déclarent jeunes
- Les pathologies de surcharge d'origine génétique (hémochromatose, maladie de Wilson, déficit alpha1 antitrypsine ...)
- Les étiologies vasculaires (syndrome de Budd Chiari, cirrhose cardiaque, maladie veino-occlusive...)
- Les anomalies des voies biliaires
- Les pathologies auto-immunes (cholangite sclérosante primitive, hépatite auto-immune ...)
- Les causes médicamenteuses
- La cirrhose cryptogénique

En France, d'après l'INSERM, la NASH, la consommation chronique d'alcool et les infections virales sont à l'origine de 90% des cirrhoses [19].

I.5. Les complications de la cirrhose

Dans 40% des cas, les patients sont asymptomatiques, ce qui correspond à une cirrhose compensée. La plupart évolueront inévitablement vers des complications (les complications liées à l'hypertension portale, l'insuffisance hépatocellulaire, le développement d'un carcinome hépatocellulaire). On parlera alors de stade décompensé. Environ 50% des patients ayant une cirrhose décompensée seront morts à 5 ans [1].

I.5.1. Les complications liées à l'hypertension portale

L'hypertension portale est la conséquence d'une augmentation des résistances vasculaires intrahépatiques et du débit splanchnique.

L'augmentation des résistances vasculaires est liée à plusieurs éléments. Les cellules étoilées activées entourant les vaisseaux sinusoidaux, vont se contracter. La résistance vasculaire intrahépatique est également favorisée par la diminution de production et de la biodisponibilité

du NO, puissant vasodilatateur. Les radicaux superoxydes, produits dans un contexte de stress oxydatif tel que la cirrhose, vont en effet se fixer au NO. Il existe également une augmentation de l'angiogenèse de vaisseaux irréguliers. En réponse à l'augmentation des résistances vasculaires intrahépatiques, se développent les collatérales porto-systémiques, puis une vasodilatation du réseau splanchnique et systémique ayant pour conséquence une augmentation du débit splanchnique. En réponse à la diminution du volume sanguin artériel effectif, se développe une rétention hydro-sodée par le biais du système nerveux sympathique et le système rénine-angiotensine-aldostérone [20].

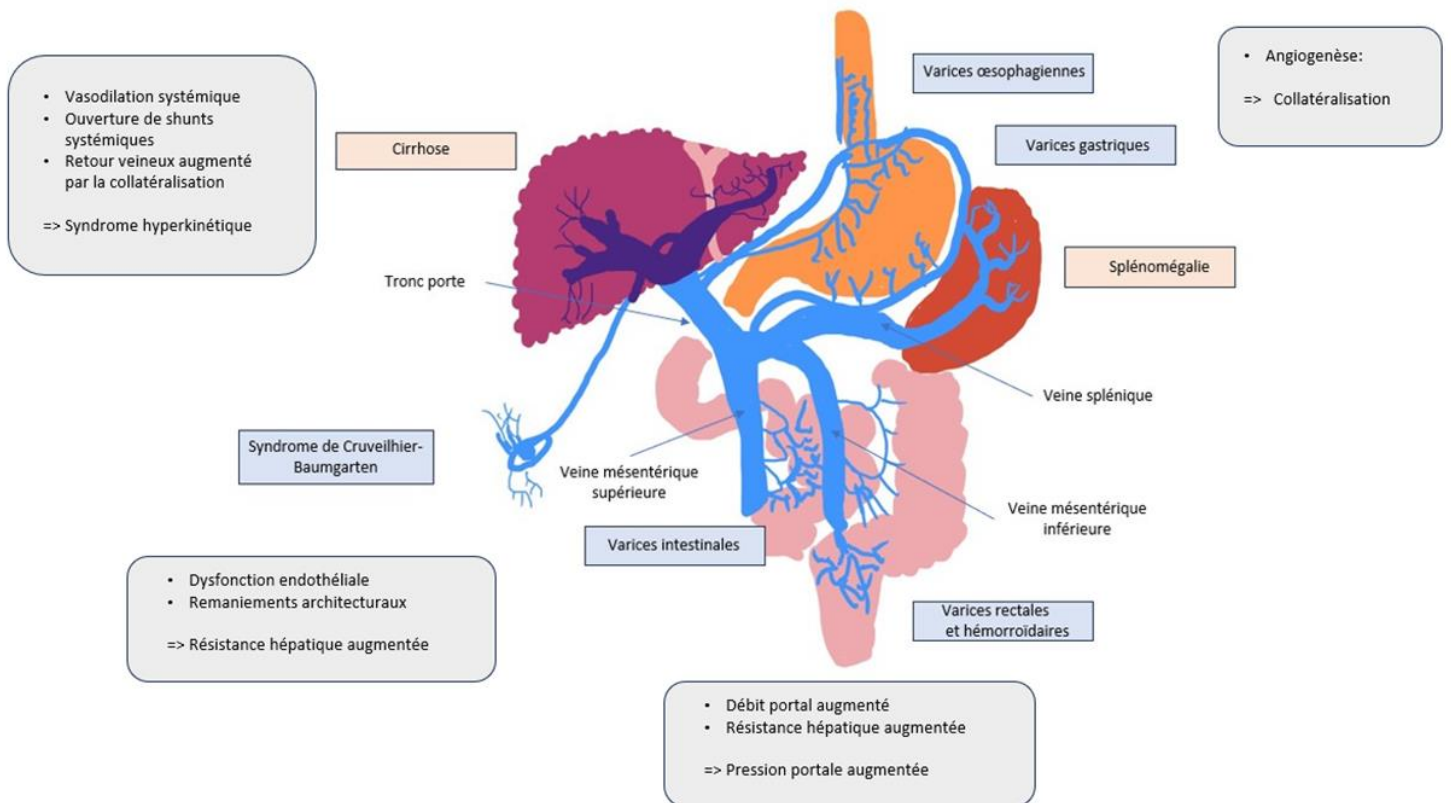


Figure 3: Hypertension portale

Cliniquement, cela se traduira par des décompensations œdémato-ascitiques, la présence en fibroscopie œso-gastro-duodénale d'une gastropathie en mosaïque et/ou de varices œsophagiennes et/ou de varices gastriques et/ou d'ectasies vasculaires antrales, d'un hydrothorax, d'un syndrome hépato-rénal, d'un syndrome porto-pulmonaire... [21] [22].

L'ascite est la complication la plus fréquente de la cirrhose. Dans les 10 ans qui suivent le diagnostic, 60% des patients avec une cirrhose compensée développeront une ascite. L'importance de l'ascite est évaluée selon 3 grades définie par l'OMS :

- grade 1 : ascite seulement détectable en imagerie
- grade 2 : ascite de moyenne abondance
- grade 3 : ascite importante avec distension abdominale marquée [21].

I.5.2. Encéphalopathie hépatique

L'encéphalopathie hépatique représente l'ensemble des troubles neurologiques et/ou neuropsychiatriques induits par une insuffisance hépatocellulaire et/ou un shunt porto-systémique.

C'est une complication fréquente avec une prévalence au diagnostic de 10 à 14%. Il est estimé que 20 à 80% des cirrhotiques présentent un stade infraclinique et que ces chiffres sont vraisemblablement sous-estimés. Un tiers de ces patients développeront une encéphalopathie hépatique clinique. La mortalité hospitalière est de 15% [23] [24]. L'impact socio-économique est également très important. L'encéphalopathie est source d'une augmentation de la durée d'hospitalisation, d'une majoration des frais hospitaliers et ambulatoires. Elle a aussi un impact important sur les activités de la vie courante mais aussi sur la productivité au travail, sur la capacité à conduire des véhicules motorisés et sur la qualité de vie [25].

La physiopathologie de l'encéphalopathie hépatique, complexe et multifactorielle, est à ce jour non totalement expliquée. Néanmoins, le rôle de l'ammoniémie et du stress oxydatif semble prépondérant.

Les bactéries intestinales, et notamment coliques représentent la principale source de production d'ammoniac. Il est détoxifié en majorité par le foie, via le cycle de l'urée, pour être excrété par les voies urinaires. Il peut être transformé en glutamine dans les muscles. La sarcopénie du cirrhotique est ainsi un facteur favorisant. L'ammoniac franchit la barrière hémato-encéphalique pour atteindre les astrocytes où il est transformé en glutamine. Du fait de son pouvoir osmotique, la glutamine induit un gonflement des astrocytes. Cela peut conduire à un œdème cérébral, une hypertension intra-crânienne avec un engorgement cérébral ou cérébelleux. Dans les neurones, la glutamine est désaminée en glutamate, un neurotransmetteur excitant. En réponse, dans la cirrhose, on observe des mécanismes compensateurs : la diminution du transporteur du glutamate et des récepteurs post-synaptiques du glutamate ce qui conduit à un ralentissement, une somnolence et une altération de la conscience. L'hyperammoniémie est responsable également d'un stress oxydatif [26] [23].

L'altération de la barrière intestinale du cirrhotique facilite la translocation bactérienne avec pour conséquence l'activation du système inflammatoire. Dans le cerveau, en réponse les astrocytes et les cellules microgliales, produisent des interleukines IL1 β et IL6. Ils vont ensuite stimuler l'adhésion des neutrophiles et la migration intracérébrale de protéases, chemokines et des ROS. Ceci explique bien le lien entre les infections et l'encéphalopathie hépatique [27] [23].

L'altération de la barrière hémato-encéphalique est multifactorielle. L'ammoniac est une cause débattue. La fragilité de la barrière a pour conséquence une moindre protection contre les toxines, les xénobiotiques, les fluctuations du plasma (ex : natrémie) [26] [23].

Suivant le terrain, 3 types d'encéphalopathie hépatique sont définis : le type A secondaire à une insuffisance hépatocellulaire aiguë, le type B secondaire à des shunts porto-systémiques non liés à une pathologie hépatique sous-jacente, le type C secondaire à une cirrhose. La classification clinique la plus utilisée est celle de West-Haven. Elle divise l'encéphalopathie clinique en quatre stades de I à IV, du simple ralentissement psychomoteur au coma [28]. Il est important de dépister l'encéphalopathie infraclinique. Le test d'énumération des animaux est un test reconnu de dépistage, simple et rapide [29].

Actuellement, le traitement de l'encéphalopathie clinique ou infra-clinique est basé essentiellement sur les sucres disaccharides non absorbables (LACTULOSE) et les antibiotiques non absorbables (RIFAXIMINE) [29].

I.5.3. Le carcinome hépatocellulaire

Le carcinome hépatocellulaire est la tumeur primitive hépatique la plus fréquente (2ème cause de décès par cancer dans le monde). Son incidence est en augmentation, notamment chez les patients avec une NAFLD ou MASLD. Il se développe majoritairement sur un foie de fibrose, et plus particulièrement de cirrhose (85 à 95% des cas) [30] [31]. Au diagnostic, 40% des patients pourront bénéficier d'un traitement curatif (radiofréquence, résection chirurgicale ou transplantation hépatique) [32]. Dans plus de 70% des cas, le dépistage semestriel échographique, sans dosage alpha-fœtoprotéine associé, permet de dépister le cancer à un stade curatif [33].

I.6. Evaluation de la fibrose hépatique

I.6.1. Biopsie hépatique

Bien qu'imparfait, le gold standard actuel pour déterminer le degré de fibrose hépatique reste l'histologie obtenue au moyen d'une biopsie hépatique. Deux méthodes sont possibles : la ponction par voie transpariétale ou la ponction par voie transjugulaire, en cas de contre-indication de la première (un taux de prothrombine inférieur à 50 %, un taux de plaquettes inférieur à 50 Giga/l ou un allongement du temps de céphaline + activateur supérieur à 1,5 fois la normale, la présence d'une ascite, d'une dilatation des voies biliaires ou d'une insuffisance rénale chronique de stade IIIB ou plus) [34]. Si les contre-indications sont respectées, cette procédure reste sûre, et même possible en ambulatoire. La morbidité est de 0.2% (douleur, hypotension sur malaise vagal, hématome sous-capsulaire, hémorragie intrapéritonéale, hémobilie). La mortalité est extrêmement faible (0.001%) à défaut d'être nulle [35]. L'acte coûte 150 euros en France.

Toutefois, le biais d'échantillonnage est considérable. La biopsie ne permet d'analyser que 0.00001 % du foie. Le résultat peut être ainsi mal interprété, d'autant que la répartition de la fibrose est inhomogène. Les variations inter et intra-observateur sont également importantes. La sensibilité dans le dépistage de la fibrose significative et de la cirrhose est de 100% et de 92,7% respectivement. La spécificité est de 77% et de 90.4% [36]

En 1981, il est proposé par l'équipe de KNODELL, un score histologique semi quantitatif et reproductible, qui reflète la sévérité de la nécrose et l'inflammation. Il permet l'obtention d'une valeur numérique, comprise entre 2 et 28, utile pour les analyses statistiques [37].

En 1996, l'équipe française du Pr BEDOSSA, développe le score METAVIR pour évaluer la gravité de l'hépatite. Initialement utilisé dans l'évaluation de l'hépatite virale C, il est maintenant largement appliqué dans toutes les hépatites. Le score comporte deux catégories : « A » comme Activité coté de A0 à A3 et « F » comme Fibrose, coté de F0 à F4. L'activité histologique est le reflet des lésions nécro-inflammatoires. Après relecture de plus de 300 lames de biopsies par dix anatomopathologistes experts, ont été déterminés les 5 éléments les plus discriminants composant le score : la stéatose, la nécrose péri-portale selon l'indice de Knodell, la nécrose lobulaire selon l'indice de Knodell, la fibrose centrolobulaire et la prolifération ductulaire [2].

I.6.2. Tests non invasifs

Du fait des complications potentiellement graves de la biopsie hépatique, et du nombre important de patients avec facteurs de risque, la biopsie ne peut s'imposer comme l'examen de première intention pour le dépistage des maladies hépatiques avancées. Il paraît également déraisonnable de répéter les biopsies pour suivre l'évolution de la fibrose. C'est dans cet objectif que des tests non invasifs, biologiques ou basés sur l'élastométrie impulsionnelle ont été développés. Il est possible d'associer les tests biologiques avec l'élastométrie impulsionnelle pour augmenter les performances [38].

I.6.2.1. Tests non invasifs biologiques

Depuis la création du FibroTest®, plusieurs tests, paramétrés ou non, ont été créés, pour pouvoir essentiellement estimer le degré de fibrose hépatique, mais aussi la stéatose, voire l'inflammation. Quoique nombreux, peu sont validés et utilisés en pratique courante.

On sépare les tests paramétrés des test non paramétrés. Les tests non-paramétrés les plus utilisés sont le Fib4 surtout, mais aussi l'APRI, l'ELIFT, le score de Forns, le NAFLD fibrosis score, disponibles aisément [39] – [43].

D'autres tests sont basés notamment sur des biomarqueurs associés à la fibrose, tels que l'acide hyaluronique, le collagène sérique de type III (PIIINP), la métalloprotéinase 1 de matrice (MMP-1) ou le facteur de croissance hépatique (HGF). Les tests les plus utilisés sont le FibroTest®, le FibroMètre®, l'ELF, l'HepaScore [44] – [47]. Il faut noter que ces tests sont couramment réévalués pour être améliorés.

I.6.2.2. Tests non-invasifs basés sur l'élastométrie impulsionnelle

Le FibroScan® est un outil largement utilisé depuis plus de 20 ans par les hépatologues, initialement en France, puis rapidement, il a été développé à travers le monde et est devenu un test de référence. Au moyen d'un petit percuteur, une d'impulsion non douloureuse est envoyée au foie (simple petite vibration ressentie), engendrant des ondes élastiques de cisaillement. Ces ondes vont ensuite se propager à travers l'organe. Leur vitesse de propagation est mesurée au moyen des ultrasons émis par la même sonde en kPa (valeurs comprises entre 1.5 et 75 kPa). Plus le foie est dur, plus les ondes se propagent vite. La vitesse de l'onde est ainsi corrélée à l'élasticité du foie, et donc au degré de fibrose. La mesure évalue 1/500 du foie [48].

C'est un examen rapide (la durée est inférieure à 5 min), pouvant être réalisé directement au lit du patient. C'est un examen techniquement facile, demandant peu d'apprentissage et possiblement réalisable par du personnel para-médical formé. Le coût de l'examen est faible (50 euros). Il a été démontré que le résultat était indépendant de l'opérateur (coefficient de corrélation partiel de 0.71, $p < 0.0001$) et reproductible (coefficient de variation standard 3%) [48].

C'est un excellent examen notamment pour le diagnostic de la fibrose F3 et de la cirrhose (F4) (sensibilité et spécificité respectivement de 85%/92% et 82%/92%). Cependant la précision est moindre pour le diagnostic de la fibrose F2 (sensibilité de 79% avec une spécificité de 75%) [49].

Actuellement, la mesure de l'élasticité hépatique peut être réalisée sur d'autres appareils, comme l'échographie (ARFI) ou l'IRM (élasto-IRM), ce qui permet d'augmenter sa disponibilité.

Il est primordial de connaître la situation clinique pour interpréter les résultats. La présence d'ascite, de transaminases supérieures à 5N, d'une cholestase extra-hépatique, d'une insuffisance cardiaque droite congestive faussent les résultats en les surestimant [50]. L'amylose comme d'autres pathologies de surcharge peut également donner des résultats élevés [51].

Pour évaluer les résultats du fibroscan, on utilise des critères de qualité : le taux de réussite (pourcentage de mesures réussies par rapport au nombre total de mesures) qui évalue la reproductibilité, et l'IQR/M (Interquartile/median) qui apprécie la fiabilité des résultats. L'IQR/M doit être inférieure à 30% pour toute valeur de la médiane > 7 KPa [52].

I.6.2.3. Test basés sur des combinaisons

Afin d'optimiser l'évaluation de la fibrose, des combinaisons de tests ont été développés, associant un test biologique au FibroScan®. Le FibroMètre® VCTE, le FAST, les scores Agile 3+ et 4+ sont notamment disponibles avec une amélioration des performances en comparaison aux tests isolés [11] [53] – [56]. Quoique ces combinaisons de tests soient plus performantes, leur utilisation reste limitée dans la communauté médicale du fait de leur développement récent.

I.6.3. Limites et avantages des tests

Les tests non-invasifs ont des limites globales et intrinsèques [57] [58]. Globalement, on retient :

- une accessibilité variable selon le test, certains d'entre eux étant coûteux et plus difficiles à appliquer selon le pays ou le système de santé ;
- une sensibilité et une spécificité variables selon le test, bien qu'une corrélation ait été montrée avec les résultats histologiques, d'autant que certains paramètres peuvent influencer le résultat, notamment le poids, la présence d'une stéatose ;
- que la plupart des tests ont été développés dans une population d'âge moyen, leur interprétation peut s'avérer plus limitée à des âges plus extrêmes ;
- l'absence d'information sur d'autres paramètres, notamment sur l'inflammation, particulièrement en cas de stéatohépatite métabolique.

Plus spécifiquement à chaque test, certains cofacteurs peuvent rendre leur interprétation erronée : inflammation, cholestase ou congestion d'origine cardiaque pour l'élastométrie, variation d'un des marqueurs pour les tests biologiques (plaquettes pour le Fib4, haptoglobine en cas d'hémolyse, par exemple.).

Il faut également souligner les limites du gold standard qu'est la biopsie hépatique, essentiellement liée à un problème d'échantillonnage [59]. Ceci reste un biais pour les études basées sur une comparaison des tests non-invasifs avec la biopsie hépatique.

Malgré les limites exposées ci-dessus les tests non invasifs de fibrose ont l'avantage d'être aisément reproductibles, notamment pour un suivi longitudinal. Ils sont aussi prédictifs d'événements « liés au foie » (LRE : liver related events) mais aussi de la survie globale [60].

I.6.4. En pratique

Les tests non-invasifs sont validés, basés sur un recul d'une vingtaine d'années, pour estimer la fibrose, mais aussi pour leur caractère pronostique. Du fait de leurs limites respectives, il

est le plus souvent proposé une association, avec une test biologique simple initial sensible, associé dans un second temps à un examen plus spécifique [61].

I.7. Score de gravité de la cirrhose

Les scores de gravité de la cirrhose ont pour objectif d'aider les cliniciens dans la prise en charge quotidienne des patients. Ils estiment le pronostic et permettent d'adapter le suivi. Ils ont une importance dans la prise de décision thérapeutique, notamment dans l'allocation des greffons.

I.7.1. Score CHILD PUGH TURCOTTE

En 1974, un premier score est développé par CHILD et TURCOTTE, puis adapté par PUGH, dont l'objectif est de prédire la mortalité des patients cirrhotiques, initialement, en post-opératoire d'un shunt chirurgical ou d'une chirurgie majeure [62] [63]. Il est désormais largement utilisé par tous les praticiens, chez tout patient cirrhotique, dans le suivi de la fonction hépatique [64].

Il se base sur 5 critères clinico-biologiques : Bilirubine totale, albumine, ascite, encéphalopathie hépatique et statut nutritionnel. Le dernier critère est secondairement remplacé par le TP, pour créer le score utilisé actuellement [65].

Il classe les patients en 3 catégories :

- Child-Pugh A pour les scores de 5 à 6, correspondant à une fonction hépatique conservée
- Child-Pugh B pour les scores de 7 à 9, correspondant à une fonction hépatique modérément altérée
- Child-Pugh C pour les scores de 10 à 15, correspondant à une dysfonction hépatique avancée

Tableau 1: Score de CHILD PUGH TURCOTTE

	TP	Albumine (g/L)	Bilirubine ($\mu\text{mol/l}$)	Ascite	Encéphalopathie hépatique
1 point	> 50%	> 35	< 35	Absente	Absente
2 points	40-50%	28-35	35-50	Légère à modérée	Modérée
3 points	< 40%	< 28	>50	Sévère	Tendue ou réfractaire aux diurétiques

Ce score a l'avantage d'être un score simple d'utilisation, peu coûteux. Il a une sensibilité et une spécificité de l'ordre de 80%. Il est discriminant pour prédire la mortalité à un an des patients cirrhotiques [64].

Cependant, le score présente des limites dans son application. Dans l'évaluation du pronostic du patient, les comorbidités, l'âge, et les facteurs de risque ne sont pas pris en compte. Les critères d'évaluation de l'ascite et de l'encéphalopathie hépatique sont subjectifs, induisant un biais de classement entre les praticiens. Ces critères peuvent être impactés par certains traitements : par exemple les diurétiques pour l'ascite ou le LACTULOSE pour l'encéphalopathie hépatique. Enfin, seules quelques complications de la cirrhose sont prises en compte. De surcroît, les valeurs biologiques ne sont pas prises en compte en continu : exemple une bilirubine totale à 57 $\mu\text{mol/L}$ aura le même poids qu'à 530 $\mu\text{mol/L}$.

I.7.2. Score MELD

Le score de MELD (Model for End-Stage Liver Disease) a été développé par l'équipe de la Mayo Clinic par MALINCHOC et al. au début des années 2000, pour estimer la survie à 3 mois post TIPS. Secondairement validé pour une utilisation plus généralisée, il présente une bonne corrélation avec la mortalité à 3 mois [66].

C'est un score basé sur des critères biologiques de routines, objectifs et reproductibles : la bilirubine, l'INR et la créatinine. Même si ces paramètres sont simples à obtenir, le résultat est obtenu au moyen d'une formule complexe ($3,78 \times \ln(\text{bilirubine [mg/dl]}) + 11,2 \times \ln(\text{INR}) + 9,57 \times \ln(\text{créatinine [mg/dl]}) + 6,43$). Pour un patient dialysé, la créatinine est systématiquement considérée à 352 $\mu\text{mol/l}$. Le score varie de 6 à 40. Plus le score est élevé, plus le pronostic à court terme est sombre [66].

Comme le score CHILD-PUGH, certains paramètres sont impactés par des traitements : l'INR avec les anticoagulants, la créatinine avec les diurétiques, ...

Le score de MELD est utilisé comme un critère de référence pour l'attribution des greffons hépatiques, notamment par l'UNOS aux Etats-Unis. Il a été supplanté récemment par le score MELD-Na, qui prend en compte la concentration plasmatique en sodium, également pronostique. D'autres scores émergent, comme le MELD 3.0, permettant une meilleure répartition des greffons [67]. Depuis mars 2007, en France, à l'exception des greffes en « super urgence », l'allocation des greffons, sous l'égide de l'agence de Biomédecine, est basée sur le score Foie dont le score MELD est le paramètre principal. Il est à noter que pour l'indication hépatocarcinome, on prend également en compte des paramètres carcinologiques regroupés dans le score AFP [68].

Ce score a remplacé l'ancien critère « le temps d'attente sur liste ». Il a diminué la mortalité des patients sur liste, en allouant les greffons aux patients avec le pronostic vital à court terme le plus sombre [69]. Cependant, Les femmes sont désavantagées par le MELD. Du fait, d'une plus faible masse maigre, leur créatinine sérique est moindre. Comparativement aux hommes, leur probabilité d'accès à la greffe est diminuée de 30% et une mortalité sur liste majorée de 20% [70]. Des scores émergent pour renforcer l'égalité d'accès liée au sexe [67].

Toutefois, toutes les complications, même ayant un impact péjoratif important, ne sont pas prises en compte : l'ascite réfractaire, hémorragie digestive récidivante, Maladie de Rendu Osler, prurit réfractaire, cholangite sclérosante primitive, Elles peuvent faire l'objet d'une composante expert afin de faciliter l'accès à la greffe [71].

I.7.3. Score ALBI

Le score ALBI (Albumin-Bilirubin) est basé sur deux critères : l'albumine et la bilirubine sériques. Il est le résultat d'une formule complexe : $(\log_{10} \text{bilirubine } (\mu\text{mol/L}) * 0,66) + (\text{Albumine } (\text{g/L}) * -0,085)$.

Selon le résultat, on classe les patients en 3 grades [72] :

- Grade 1 : ≤ -2.6
- Grade 2 : entre -2.6 et -1.39
- Grade 3 : ≥ -1.39

Il évalue objectivement la fonction hépatique [73]. Il est plus performant que le Child Pugh pour estimer la survie à long terme dans certaines situations.

Dans une étude rétrospective chinoise de 221 patients atteints d'un hépatocarcinome, traités par chimioembolisation, les patients Child-Pugh A5 ALBI-1 ont une meilleure survie globale à 1 an, 3 ans et 5 ans que les Child Pugh A5 ALBI-2 (92.4%, 55.7%, et 27.5% contre 63.3%, 17.3%, et 5.5% respectivement ; Log-rank $P < 0.001$). En revanche, la survie globale des ALBI-2 Child-Pugh A5 ou Child Pugh A6 n'était pas significativement différente [74]

I.7.4. Score de D'Amico ou EASL

D'Amico et al. ont défini un score pronostique, correspondant aux différents stades évolutifs de la cirrhose. Elle se base sur la présence d'ascite, de varices, hémorragiques ou non, et du risque évolutif respectif selon 5 stades [75]. Le score EASL (European Association for the Study of the Liver) prend en compte le même principe avec des stades correspondant à différents états de la maladie en affinant les critères [76]. Le rôle de ce score est limité au pronostic de la maladie. Il ne permet pas une variabilité longitudinale pour comparer les patients.

II. Albumine

II.1. Carte d'identité

L'albumine est la protéine majoritaire du sérum humain représentant plus de 60% des protéines plasmatiques. C'est une protéine globulaire, chargée négativement, soluble dans l'eau, en forme de cœur, composée par 585 acides aminés, dont la masse moléculaire totale est de 66 kDa. Elle est codée par le chromosome 4 [77]. Sa structure tertiaire contient 67% d'hélices alpha, divisées en trois domaines homologues, et stabilisées par 17 ponts disulfures. C'est une protéine flexible, pouvant changer rapidement de forme [78] [79].

Ne pouvant être stockée dans le foie, elle est sécrétée de façon continue par les hépatocytes (10-15g/j). Sa concentration sérique est comprise entre 35 et 50 g/L [80]. Elle est principalement dégradée dans le foie, les muscles et les reins. En temps normal, sa demi-vie est d'environ 20 jours [36][37]. Les propriétés de l'albumine dépendent de sa structure et de ses modifications post-transcriptionnelles, qui concernent au moins 18 résidus tyrosine, six méthionines, un tryptophan, 59 lysine, 17 disulphides et une cystéine (Cys 34) [80].

II.2. Rôles et fonctions

Les propriétés, oncotiques et non oncotiques de l'albumine sont multiples.

Elle participe à hauteur de 75% à la pression oncotique due à son incapacité à passer au travers de l'endothélium capillaire et joue ainsi un rôle crucial dans la distribution des fluides de l'organisme [81] – [84]. Elle peut fixer de manière réversible ou irréversible des molécules endogènes ou exogènes (les hormones, les ions, les médiateurs de l'inflammation, les xénobiotiques, les médicaments et leur dérivés, ...), et assure ainsi le rôle de transporteur sérique. Certaines molécules vont rentrer en compétition ce qui peut impacter leur distribution, leur élimination et leur effets pharmacodynamiques [85].

Elle représente la source d'anti-oxydant extra-cellulaire la plus importante [86] [87]. Grâce à son thiol libre en position 34 (Cys-34), elle peut capter les radicaux libres (ROS : réactifs de l'oxygène et RNS : réactif de l'azote), relargués par les cellules de l'immunité en situation de stress [88]. Elle peut également chélater, par sa région N-terminal, des ions participant à la formation de radicaux libres, tels que le cuivre et le fer. Elle joue également un rôle dans la réponse inflammatoire en inhibant l'adhésion des neutrophiles à l'endothélium [89] [85]. Par sa capacité à lier le NO au Cys-34, l'albumine a une fonction anti-thrombotique. L'effet du NO, sur la vasodilatation et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire va être ainsi allongée [85]. L'albumine intervient aussi dans la stabilisation endothéliale [90].

II.3. Modification chimique

L'albumine subit des modifications post transcriptionnelles affectant sa structure et sa fonction, pouvant conduire à la naissance d'isoformes de l'albumine. L'état pro-inflammatoire, comme la cirrhose, favorise ces modifications. Les plus fréquentes et les plus étudiées sont l'oxydation, glycation, troncature C- ou N- terminale, nitrosylation, conversion d'une cystéine en deshydroalanine. Des modifications même minimes peuvent induire d'importants changements structuraux [91].

Il existe une micro-hétérogénéité de l'albumine circulante. L'équipe de DOMINECALI a décrit la présence de 7 isoformes en plus de l'albumine native chez le sujet sain, comportant une ou deux altérations. Il n'existe pas de différence significative dans la proportion des différents

isoformes entre les genres. L'âge est lui corrélé négativement avec la concentration de l'albumine native et de façon positive avec les isoformes cystéinylées [92]. Récemment, 15 isoformes pouvant avoir un impact dans le dysfonctionnement hépatique ont été caractérisés. La méthode est basée sur l'utilisation d'un système LC-TOF-MS permettant d'obtenir le spectre de l'albumine chargée. Celui-ci est déconvolué pour identifier les isoformes. Il s'en suit une analyse quantitative de l'abondance des isoformes basée sur la méthode des trapèzes. L'identification est réalisée en 3 minutes [93].

L'oxydation peut toucher de nombreux acides aminés (cystéine, méthionine, lysine, arginine, et proline) mais la plus fréquente des modifications post-transcriptionnelles est l'oxydation du Cys34 [91]. Selon l'état redox du Cys 34, on classe l'albumine en 3 catégories :

- La mercaptoalbumine humaine (HMA) : son groupe thiol est libre. La plus abondante (70 à 80% de l'albumine chez le sujet sain).
- La non-mercaptoalbumine 1 (HNA1) : une forme oxydée réversible (20 à 30%)
- La non-mercaptoalbumine 2 (HNA2) : une forme oxydée irréversible (<5%) [94]

Il a été récemment montré que l'HNA1 induit une inflammation systémique en permettant l'activation des leucocytes périphériques. Les concentrations plasmatiques de HNA1 et HNA2 sont augmentées lors du passage d'une cirrhose compensée à un état décompensé, et en cas d'ACLF [95]. Le taux plasmatique de HNA2 est lié à la survie à court terme [94].

La formation de dimères d'albumine chez des patients cirrhotiques, en réponse à un stress oxydatif, a également été décrite. L'albumine dimérique est la conséquence de la liaison de 2 protéines via un pont disulfure au niveau du site Cys-34. Le rapport dimère/monomère est majoré de façon significative chez les patients cirrhotiques. Trois isoformes principaux sont générés par le processus d'homodimérisation (albumine tronquée en C- et N- terminal et l'albumine native). L'albumine native monomérique, la seule isoforme avec une intégrité structurelle et fonctionnelle, est progressivement réduit. L'isoforme homodimérique avec la troncation N-terminale est de façon indépendante associé aux complications de la cirrhose. C'est une aide pour estimer la survie à un an des patients[96] [97].

La détermination de l'albumine native, par des méthodes classiques, pourrait aider dans l'évaluation pronostic afin de prédire la réponse au traitement. En effet, la diminution de l'albumine native, l'albumine effective, est étroitement corrélée à l'atteinte hépatique, davantage que l'albumine totale [98].

Le test IMA (albumine modifiée par ischémie) est un test validé par la FDA dans l'infarctus du myocarde. Il mesure la capacité de liaison du cobalt à la molécule d'albumine. Les valeurs du test sont significativement plus faibles chez les patients cirrhotiques, et encore plus chez ceux en ACLF. Le test pourrait ainsi être utilisé à visée pronostique dans l'insuffisance hépatique aiguë [99].

II.4. Biomarqueurs de l'hépatotoxicité

Les biomarqueurs actuellement utilisés manquent de performance. Nombreuses études, notamment pharmacologiques, ont développées des biomarqueurs, plus sensible et spécifique, afin de détecter une hépatotoxicité. Ils permettraient de faire le lien entre les études précliniques et cliniques. Parmi certains biomarqueurs, on peut citer en exemple le glutamate déshydrogénase (GLDH), le sorbitol dehydrogenase (SDH), le High-mobility group box-1 (HMGB1), la kératine 18 (K18), le micro-ARN 122 (miARN 122) [100].

II.4.1. Alanine aminotransferase

L'ALAT (alanine aminotransférase) est actuellement le biomarqueur le plus utilisé. En cas de lésions hépatiques, cette enzyme, présente dans les hépatocytes, est libérée dans la circulation. Cependant, non spécifique du foie, elle peut également être libérée par l'atteinte d'autres organes (rein, muscle, cœur). De plus certains médicaments, connus pour être hépatotoxique, n'induisent pas d'augmentation de l'ALAT et a contrario, le taux peut être fortement augmenté sans induire des lésions cliniquement significatives [101] - [103].

II.4.2. Glutamate déshydrogénase

La GLDH (glutamate déshydrogénase) est une protéine spécifique du foie, localisée dans la matrice mitochondriale des hépatocytes. Sa présence dans le sang est le témoin d'une altération de l'intégrité mitochondriale [100]. Il comporte des limites dans son utilisation comme biomarqueur. Il est plutôt le témoin d'une atteinte aigue. Sa concentration est similaire entre les patients atteints d'une hépatopathie chronique et les sujets sains [104].

II.4.3. Kératine 18

La kératine 18 (K18) est une protéine filamentaire, de la famille des kératines, présente de façon importante dans les hépatocytes. La protéine intègre est libérée par les cellules nécrotiques, tandis que la forme tronquée, clivée par une caspase, provient de cellules en cours d'apoptose [105].

Cependant, son utilisation comme biomarqueur est limitée par de nombreux de faux positif. Notamment, elle s'élève lors de situation engendrant une inflammation, en cas d'insuffisance rénale chronique, dans de nombreux cancer tel que le cancer pulmonaire, des cancers ORL, carcinome épidermoïde de l'œsophage ... [106][107].

II.4.4. Micro-ARN 122

Les micro-ARN (miARN) sont des ARN non codants courts. Ils participent à la régulation des voies de signalisation intracellulaires et extracellulaires et à la régulation post-transcriptionnelle des gènes. Ils se lient aux régions 3' non traduites du gène. Ils sont présents dans les fluides corporels notamment le sang [108]. Le miR-122 est fortement exprimé par le foie et représente 70% des miARN hépatique. Dans plusieurs études, notamment celle menée par STARCKX et al., chez le rat, les taux de miR-122 étaient corrélés avec la gravité de la fonction hépatique. Les modifications étaient détectées plus précocement qu'avec les autres marqueurs [109][110]. Toutefois, il semble exister une grande variabilité inter et intra individuelle de la circulation du miR-122 circulant chez les volontaires sains [111]. De plus, l'étiologie semble avoir des effets variables sur l'expression du miR-122. Dans la NAFLD, son taux est lié à la sévérité de l'atteinte hépatique (stéatose et fibrose) [112]. Dans le cadre des hépatites virales B, son taux est augmenté avec la gravité de la fibrose et diminue en cas de carcinome hépatocellulaire. Lors d'une hépatite virale C, au contraire le taux est diminué avec la fibrose hépatique [113].

II.5. Rôle dans les maladies du foie

II.5.1. Rôle pronostique

L'albumine étant synthétisée par le foie, sa diminution apparaît comme le reflet d'une insuffisance hépatique. Elle est d'ailleurs incluse dans le score de Child Pugh et la score ALBI

mais peut aussi être présente dans des scores plus spécifiques comme le score de Lille (pronostique sur l'efficacité de la corticothérapie dans l'hépatite alcoolique aiguë). Elle apparaît aussi dans le score MELD 3.0 [114]. Une valeur inférieure à 40 g/L est pronostique de la survie [115], les patients étant plus exposés au risque d'insuffisance hépatique aiguë [116].

II.5.2. Rôle thérapeutique

L'albumine de synthèse a aussi un rôle thérapeutique [77]. Elle est utile dans plusieurs indications, dont trois d'entre elles sont validées. Elle limite la baisse de la pression oncotique et ainsi le risque de diminution de la perfusion rénale avec in fine, une diminution du risque de syndrome hépato-rénal. Elle est ainsi recommandée en cas :

- D'infection spontanée du liquide d'ascite, pour prévenir la dyscinésie circulatoire [117] [118].
- De syndrome hépato-rénal [119].
- De ponction d'ascite de large volume, au-delà de 5 litres, pour éviter la dyscinésie circulatoire induite par la paracentèse [120] [121].

D'autres situations ne sont pas validées, mais restent intéressantes. La perfusion d'albumine pourrait améliorer l'hyponatrémie et l'encéphalopathie hépatique. Elle n'est pas efficace dans les sepsis autres que l'infection spontanée du liquide d'ascite. Son utilisation reste débattue dans l'ascite réfractaire [122] – [126]. Enfin, deux études randomisées n'ont pas retenu de rôle préventif sur la fonction rénale en cas d'infection en dehors de la péritonite bactérienne spontanée [127] – [129].

II.5.3. Albumine extra-vasculaire

L'albumine peut également être dosée dans les liquides séreux lorsqu'ils sont abondants. La présence d'albumine dans l'ascite aura une valeur d'orientation étiologique mais aussi pronostique. En effet, le calcul du gradient sérum-ascite permettra, si la valeur dépasse 11 g/L, d'orienter vers une hypertension portale, avec une sensibilité proche de 90 % [130]. Par ailleurs, une valeur de l'albumine inférieure à 15 g/L est pronostique d'un risque majoré d'infection du liquide d'ascite.

III. Albumin isoforms and the evolution of liver fibrosis

III.1. Introduction

Chronic liver disease is a major public health issue worldwide. Mortality has risen significantly by around 400% over the last 30-40 years [131]. In around 30% of cases, chronic liver diseases diagnosis is made at end-stage liver disease (ESLD) when complications appear. In ESLD, survival rate declines to 50% at 5 years [131] [5] [4]. Evaluation of liver damage, thanks to non-invasive methods, suggests that from 2 to 5% of the general population has advanced fibrosis [132] [133] [8] [9] [6]. Accurate diagnosis of advanced fibrosis could be predictive of liver-related events and therefore an essential public health objective for prevention.

Liver fibrosis is a specific challenge. Liver biopsy, the current gold standard, is exposed to a sampling bias, with significant inter- and intra- observations variations, and is responsible for potential complications, sometimes severe [36]. Screening liver fibrosis with liver biopsies in the general population is not feasible. Non-invasive alternatives, single or combined, and based on blood tests or transient elastography have so been developed, [134] - [138] [48]. The tools available today are also imperfect, with interpretation and diagnostic accuracy limits [57]. Other methods have to be investigated to increase the diagnostic performance.

Human serum albumin (HSA), produced exclusively in the liver, has a physiologic central role. Oncotic properties, participating in three quarts of total plasma oncotic pressure, allow equilibrium in fluid movements. It is a powerful antioxidant, thanks to a capacity in binding and detoxifying many molecules, and it participates in inflammatory response and vascular repair [91]-[93]. It is well-established that liver cirrhosis alters albumin production, leading to a lower serum concentration; the modification (PTM) of HSA structure in advanced liver injuries is increasingly documented. The so called, "Post-transcriptional modifications", such as nitrosylation, glycation, C- or N-terminal truncature, and Cys34 oxidation of albumin appear, notably in the context of the pro-inflammatory status of cirrhosis [99] [97]. It has been very recently reported that a decrease in native albumin is simultaneously observed, that affects prognosis in cirrhotic patients [98].

Pre-clinical works suggest that albumin transcriptional modifications may appear early in liver damage. Other preliminary results obtained with animal models support the hypothesis that albumin transcriptional modifications may appear early in liver damage. Indeed, in rats poisoned with ethanol, CCl₄ or paracetamol for several days, or subjected to bile duct ligation (LBD) (n=6/group), we observed that changes in albumin were detectable very quickly, well before the usual biochemical markers increase (AST, ALT, alkaline phosphatase or bilirubin) or histological damage is visible (publications currently being submitted).

In this study, we so aimed to validate this hypothesis in humans, by assessing the possible link between albumin structural changes in albumin and the different states of progression of liver disease.

III.2. Materials and methods

Study design

Between January 2021 and January 2023, we performed a prospective monocentric study, including patients with different states of chronic liver diseases followed in the Hepatology department of the Limoges University Hospital Center, France.

Objectives

The primary objective was to study the distribution of HSA isoforms in the different groups of patients suffering from fibrosis at different stages of their disease.

Schedule

Patients were systematically surveyed to participate to the study when their clinical condition allowed it according to the investigators.

After signing an informed consent, they benefited from the research procedures including collection of clinical data, results of liver stiffness measured by FibroScan or by liver biopsy when available and biological results of tests carried out as part of the routine. Specific analyzes on albumin were carried out on residual blood samples.

Data collected

Age, gender, etiology of liver disease, MELD, stage of hepatic encephalopathy, stage of cirrhosis, stage of fibrosis and diagnostic method were collected.

Fibroscan

Liver stiffness was assessed by FibroScan® Mini+ 430 (EchoSens, Paris, France) using the M probe. Only patients with at least 10 successful acquisitions and interquartile range/median <30% were included.

The interpretation of the stages of fibrosis was based on the thresholds published according to the etiologies [139] - [141]. Schematically < 7KPa F0F1, between 7 and 9.5 KPa F2, between 9.5 and 13 KPa F3, > 13 KPa F4. Cirrhotic patients were classified as cirrhosis A, B, or C using Child-Pugh scores and BAVENO VII recommendations [22] [142].

Liver biopsy

Some patients underwent liver biopsy by transperitoneal or transjugular puncture. Fibrosis stage was assessed using the METAVIR score [2].

Clinical diagnostic of cirrhosis

The diagnosis of cirrhosis, i.e. F4 fibrosis, was based on a combination of clinico-biological and morphological criteria.

Clinically, a sharp, hard edge of the liver on palpation, sometimes associated with hepatomegaly. Ascites, splenomegaly, and abdominal collateral venous circulation indicated portal hypertension. Signs of hepatocellular insufficiency included stellate angiomas, palmar erythrosis, digital hippocratism and icterus. Flapping tremor was indicative of hepatic encephalopathy.

No biological signs are specific for cirrhosis. In compensated cirrhosis, hepatic synthesis functions are preserved. The blood test count may be strictly normal. In the case of hepatocellular insufficiency, there is a drop in PT and factor V, hypoalbuminemia, and hyperbilirubinemia, predominantly conjugated. Cytolysis, predominantly ASAT, or cholestasis may be present. Thrombocytopenia, sometimes associated with leuko-neutropenia and anemia, is indicative of hypersplenism.

On imaging, the liver is dysmorphic, with bumpy contours and a heterogeneous appearance. In portal hypertension, the diameter of the portal vein is greater than 12mm, with the presence of porto-systemic shunts and splenomegaly [143].

Inclusion criteria

Patients over 18 years old, cared for liver disease in the Hepatology department and who have had a blood test in routine within the last 24 hours. They were classified according to their fibrosis stage (F0/F1, F2, F3, F4). The stage of fibrosis was determined either by a recent fibroscan®, and/or the METAVIR score if a liver biopsy was available and/or by clinico-biological and morphologic arguments for cirrhotic patients (F4). The latter were then classified into three stages according to their Child Pugh score. Liver biopsy is the gold standard, and in the event of disagreement between elastometry and liver biopsy, the result of the biopsy alone was considered.

Exclusion criteria

Patients on dialysis or with kidney transplants, or who had received an injection of contrast agent, a chelation therapy, a transfusion, an injection of a blood derivative or albumin in the previous month (interaction risk) were excluded.

Control group

Control patients were hospitalized patients with no clinical diagnosis of liver disease, and levels within normal ranges of transaminases (AST, ALT), alkaline phosphatases (ALP), gamma-glutamyl transferases (GGT), total and conjugated bilirubin (BILIT, BILID), and lactate dehydrogenase (LDH).

HAS isoforms determination

HSA isoforms were determined using a validated method based on a simple liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry LC-TOF-MS, (submitted for publication elsewhere, Anal Chem 03 sep 2023). The method comprises a simple dilution of 20 µL of patient serum in saline water after addition of myoglobine as an internal standard protein. The HSA isoforms in each sample are quantified by using an internal calibration as described hereafter.

Chemicals and Materials

A commercial albumin solution (alburnorm 20% referred to next as HSAC) was obtained from Octapharma (France). Organic solvents and reagents were of analytical grade. Acetonitrile (ACN) and formic acid were obtained from Fisher Scientific (Illkirch, France). Myoglobin from equine heart (Mb) and ammonium formate were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). Water (0.9% NaCl) was obtained from Fresenius Kabi AG (Bad Homburg, Germany). The 0.22 µm cellulose acetate spin filters were purchased from Agilent Technologies.

Sample preparation

Plasma samples and HSAC five-point calibration curve (10, 20, 30, 40 and 50 g/L) were prepared with water (0.9% NaCl). Myoglobin (4 g/L) was prepared with milliQ-water. The protein mixture HSAC standard/Myoglobin was prepared as follows: 20 µL of a HSAC calibration curve point + 20 µL of myoglobin (4 g/L) were diluted (1:50) with 960 µL of water (0.9% NaCl). The protein mixture Plasma/Myoglobin was prepared as follows: 20 µL of plasma + 20 µL of myoglobin (4 g/L) were diluted (1:50) with 960 µL of water (0.9% NaCl). After dilution, the final concentration was of 0.2 g/L, 0.4 g/L, 0.6 g/L, 0.8 g/L, 1 g/L for the HSAC five-point calibration curve and 0.08 g/L for the myoglobin. After vortex-mixing, the mixture was filtered

on a 0.22 µm cellulose acetate filter by centrifugation for 2 min at 4°C and 18 000 rcf before injection in the analytical system.

Liquid chromatography - time-of-flight mass spectrometry (LC-TOF-MS)

Liquid chromatography/mass spectrometry (LC-MS) analyses were performed using a Nexera X3 system (Shimadzu Corporation, Noisiel, France) equipped with a thermostated column compartment and an autosampler. It is interfaced with a quadrupole time-of-flight (QTOF) mass spectrometer (TripleTOF® 5600+, Sciex, Concord, Canada), equipped with a DuoSpray™ ion source and operated in the positive ionization mode. The chromatographic separation was performed at a flow rate of 200 µL/min using a reverse-phase C4 Jupiter column (5 µm, 300 Å, 150 x 2 mm; Phenomenex), thermostated at 40°C with a binary gradient of phase A (2mM ammonium formate, 0.1% formic acid) and phase B (0.1 % formic acid in ACN: mobile phase A, 90:10, by volume) as follows : 0-1 min, 30% B; 1-2 min, 30 to 40% B; 2-12 min, 40 to 55% B; 12-13 min, 55 to 90% B; 13-15 min, 90% B; 15-15.1 min, 90% to 30% B and 15.1-20 min, 30% B. The injection volume was 10 µL. The source conditions were as follow: temperature, 400 °C; declustering potential (DP), 225 V; curtain gas (CUR), 40 units; ion source gas (GS1, GS2), 70 and 30 units respectively; and ion-spray voltage floating, 5.5 kV. m/z ratios were scanned using a TOF MS scan from m/z 900 and 2,000 with an accumulation time of 250 ms. All MS parameters were controlled by Analyst® TF 1.7 (Sciex).

Data processing

All LC-MS data were processed using PeakView® 2.2 software and its Bio Tool Kit 2.2.0 feature (Sciex).

Sample calibration

Sample calibration was performed using the “recalibrate spectrum” tool after calculating the average absolute errors between the observed and the 5 theoretical masses (1211.7925 [14+], 1304.9298 [13+], 1413.5900 [12+], 1542.0066 [11+] and 1696.1065 [10+]) in the TOF-MS spectra of the myoglobin peak. The masses used for the recalibration were selected such that they agreed with the range destined to the deconvolution of TOF-MS of the albumin peak. After sample calibration, the average absolute error was considered lower than 3 ppm.

Spectrum deconvolution

The input MS spectrum selected was deconvoluted after smoothing from 1,250 to 1,650 for albumin and 925 to 1,450 for myoglobin between m/z 1,000 and 200,000 at low resolution (5,000). The reconstructed spectra of albumin and myoglobin were then exported separately as text files for isoform quantification and statistical analyses.

Ethics

This study received approval from the national ethics committee and regulatory authorities. All patients and controls provided written, informed consent prior to entering the study for the collection of their routine data (clinical, biological and specifically for patients’ liver stiffness or histological data. Residual serum samples from patients and controls admitted to Limoges University Hospital, were studied following their consent for their use, in accordance with local and French regulations (Code de la Santé Public, Art. L1211-2) and the declaration of Helsinki for experiments involving human subjects. The study was coordinated by the University Hospital of Limoges and the biocollection was authorized by the French Ministry of Health and registered under numbers DC 2010-1074 and AC-2016-2758, in accordance with the French Bioethics Act 2011-814 of July 7, 2011. The serum samples, collected in dry tubes and sent to

the laboratory for routine biochemical tests, were used in this study after the completion of routine analyses.

Statistical analysis

Quantitative data were expressed as means and standard error of the mean (SEM) using scatter plots. The peak area of each isoform was expressed in g/L. ANOVA followed by the Tukey's post hoc test was used to evaluate the association between HSA isoforms and the etiology of patients. All tests were two sided, and $p < 0.05$ was considered statistically significant. Principal component analysis was determined using a code developed on R taking into consideration the data of the whole deconvoluted profile of albumin between 66000 and 67500 Da. Data were analyzed using R and GraphPad Prism®, version 5.04 for Windows. Figures were prepared using Prism 9 for Mac OS.

III.3. Results

Population

From January 2021 to January 2023, 45 controls and 173 patients with chronic liver disease were included. One patient was excluded due to a non-analyzable sample. Most patients were male (116, 67%). The median age at inclusion was 61 years. Patients were classified according to their fibrosis stage: 36 patients were F0/F1 (21%), 23 F2 (13%), 30 F3 (17%), 83 F4 including 37 cirrhosis Child Pugh A (22%), 26 Child Pugh B (15%), 20 Child Pugh C (12%). Diagnosis of fibrosis stage was obtained by liver elastometry (FibroScan®) and/or liver biopsy. Most patients underwent a FibroScan®(Table2). The diagnosis of cirrhosis (F4) was based on clinical, radiological, and biological data. Cirrhotic patients were classified according to the Child Pugh score.

The two main liver disease etiologies were NASH and chronic alcohol consumption, each alone or in combination; they account for more than half of the causes (NASH 36%, chronic alcohol consumption 23.2%, chronic alcohol consumption and NASH 6.3%). Other etiologies included hepatitis B virus, hepatitis C virus, autoimmune hepatitis, and others (Table 1).

Ascites was present in 30 cirrhotic patients. It was moderate in 18 patients (7 with Child Pugh B and 11 with Child Pugh C), tense or refractory to diuretics in 12 patients (7 Child Pugh B and 5 Child Pugh C). Hepatic encephalopathy was present in 18 cirrhotic patients: 1 Child Pugh A patient with stage II encephalopathy, 7 Child Pugh B (4 stage II encephalopathy and 3 stage III encephalopathy) and 10 Child Pugh C (8 stage II and 2 stage III).

Tableau 2 - Population's characteristics

	F0/F1	F2	F3	Child Pugh A	Child Pugh B	Child Pugh C	Total
Number of patients	36(21%)	23(13%)	30(17%)	37(22%)	26(15%)	20(12%)	172
Gender							
Female	17	6	12	12	1	8	56
Male	15	17	18	25	25	12	116
Age (year)							
Average age	54	61	64	62	64	59	60
Median age	53	62	62	62	63	57	61
Etiology							
NASH	13	13	22	12	3	0	62(36%)
Alcohol	1	0	0	9	16	14	40(23,2%)
HBV	10	1	2	2	0	0	15(8,7%)
HCV	2	3	1	5	0	0	11(6,3%)
Hemochromatosis	1	0	0	2	0	0	3(1,7%)
Cardiac	0	0	0	0	1	0	1(0,6%)
AIH	3	2	4	1	0	1	11(6,3%)
Autoimmune cholangitis	3	0	0	0	0	0	3(1,7%)
PBC	3	0	0	0	0	0	3(1,7%)
PSC	0	2	0	0	0	0	2(1,1%)
Cryptogenic	0	0	1	3	0	0	4(2,3%)
Mixed	0	2	0	3	7	5	17(9,9%)
Mixed etiology							
Alcohol + NASH	0	0	0	2	5	4	11(6,3%)
PBC + NASH	0	2	0	0	0	0	2(1,1%)
Alcohol + HBV	0	0	0	0	0	1	1(0,6%)
Alcohol + HCV	0	0	0	1	1	0	2(1,1%)
Average MELD	NS	NS	NS	8	15	21	14
Hepatic encephalopathy							
All stages	NS	NS	NS	1	7	10	18
Moderate	NS	NS	NS	1	4	8	13
Disabling	NS	NS	NS	0	3	2	5
Ascite							
All stages	NS	NS	NS	0	14	16	30
Average abundance	NS	NS	NS	0	7	11	18
Tense or refractory	NS	NS	NS	0	7	5	12

NS: Not suitable, NASH: nonalcoholic steatohepatitis, AIH: Autoimmune hepatitis, HCV: Hepatitis C virus, HBV: Hepatitis B virus, PBC: primary biliary cholangitis, PSC: primary sclerosing cholangitis, MELD: Model for end stage liver disease

Tableau 3 - Diagnostic's method			
Fibrosis stage	Fibroscan	Liver biopsy	Fibroscan + liver biopsy
F0/F1	35 (0.97)	4 (0.11)	3 (0.08)
F2	23 (1)	5 (0.22)	5 (0.22)
F3	28 (0.93)	12 (0.4)	10 (0.33)
F4	32 (0.45)	19 (0.23)	4 (0.05)
F4			
Child Pugh A	25 (0.68)	5 (0.13)	2 (0.05)
Child Pugh B	3 (0.11)	6 (0.23)	1 (0.04)
Child Pugh C	4(0.2)	8(0.4)	1 (0.05)

Study of the different albumin isoform

Native albumin

The average concentration of native albumin was significantly lower in patients with cirrhosis CP B or C than in F0/F1 group (Figure 4A).

In the combined F2 and F3 fibrosis group, the average native albumin concentration was significantly lower than in the control group but not than that of the F0/F1 group (Figure 4B). It was also lower in CP B or CP C than in CP A cirrhosis. We finally identified a trend of lower values in the CP C than in CP B group (figure 4).

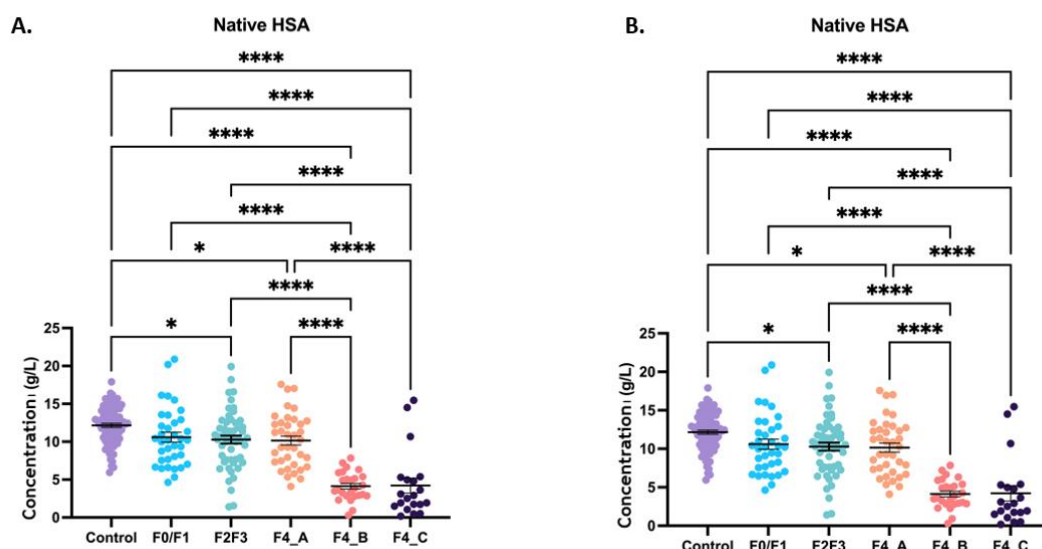


Figure 4 - Average native albumin concentration (g/L) as a function of fibrosis stage

F0/F1: fibrosis F0/F1; F2: fibrosis F2; F3: fibrosis F3; F4_A: Cirrhosis Child Pugh A; F4_B: Cirrhosis Child Pugh B; F4_C: Cirrhosis Child Pugh C

Albumin isoforms

We also compared the average concentration (g/L) of several albumin isoforms according to the stage of cirrhosis (N-terminal truncated isoform (HSA-DA), 2-glycosylated cysteinylated

isoform (HAS-CYS-GLYSx2), reversibly cysteinylated isoform (HAS -CYS) and irreversibly cysteinylated isoform (HSA-SO3H)) (Figure 5).

N-terminal truncated albumin (HSA-DA) average concentration was significantly reduced in each stages of fibrosis compared with the control group. The F0-F1 group only significantly differed from the decompensated cirrhosis groups. There was no significant difference in average concentration of HSA-DA between stages F0-F1 and F2, F0-F1 and F3 or Child Pugh A (figure 5A).

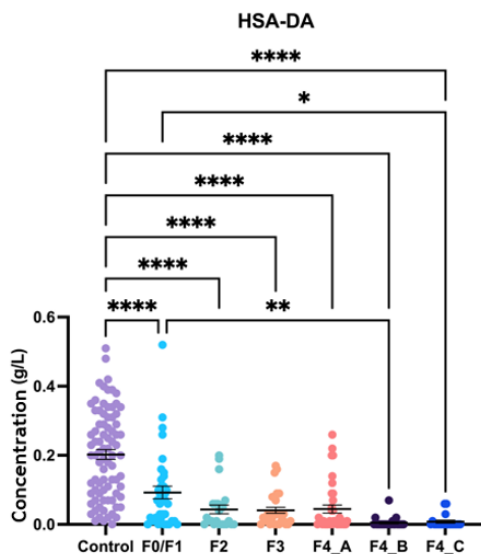
The average concentration of cysteinylated and double glycosylated isoform (HSA-CYS-GLYCx2) was significantly greater in cirrhosis stages than in controls. The concentration in the F0-F1 group only differed from the Child-Pugh C group. (Figure 5B).

The average concentration of reversibly oxidized albumin (HAS-CYS) increased significantly, compared with the control group, from fibrosis stage F0/F1 to Child Pugh A. The average concentration of the isoform in decompensated cirrhosis was lower. The average concentration was significantly lower in decompensated cirrhosis than in advanced fibrosis (F3 and Child Pugh A). This difference was only visualized with the F0-F1 and F2 groups from the Child Pugh C stage onwards (Figure 5C).

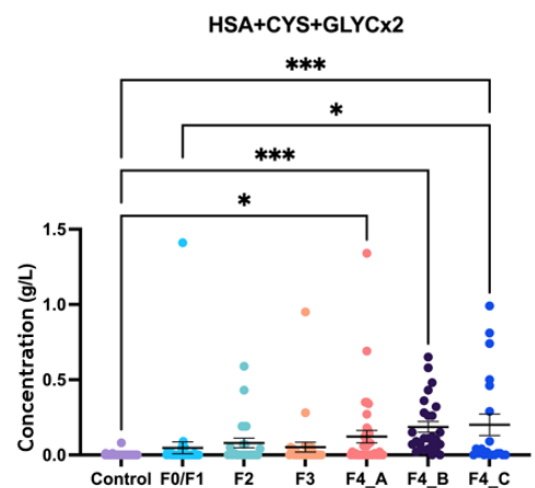
The concentration of the irreversible cysteinylated isoform decreased significantly at the stages of decompensated cirrhosis (CP B and CP C). It was significantly different from control group and from each stage of fibrosis F0 to F4 CP A (Figure 5D).

By standardizing the average concentration of cysteinylated isoform to native albumin, we then observed a significant increase of the ratio of isoform's concentration in decompensated cirrhotic patients whereas the concentration in earlier stages was similar (Figure 6).

A.



B.



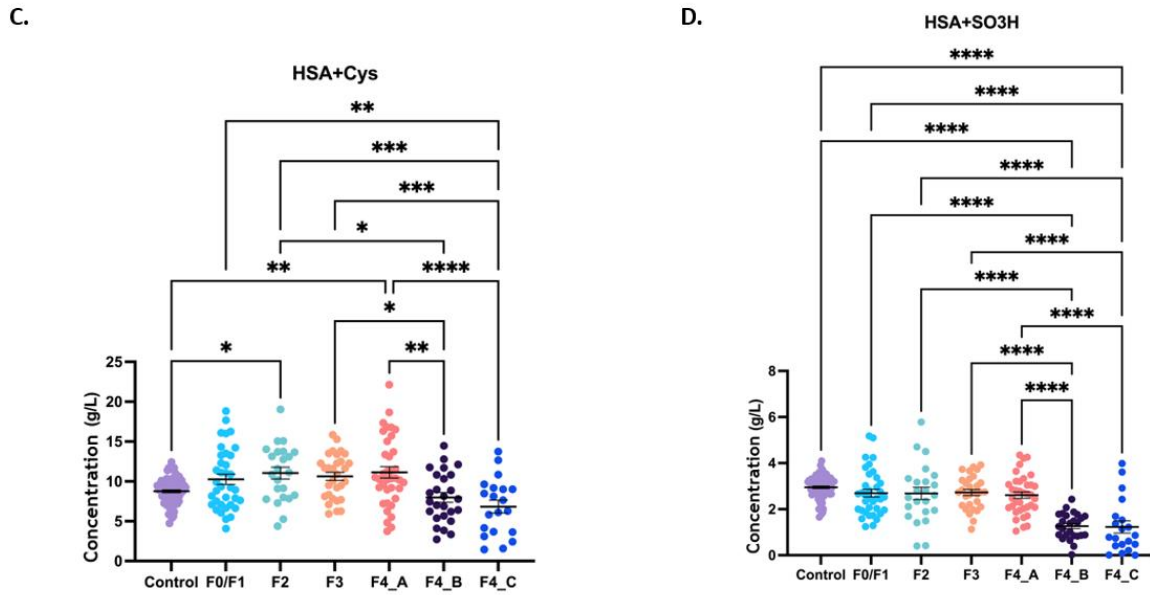


Figure 5 - Average isoform albumin concentration (g/L) as a function of fibrosis stage

2A. N-terminal truncated albumin (HSA+DA); 2B. Cysteinylated and glycosylated albumin (HAS+CYS+GLYCx2); 2C. Reversibly oxidized albumin (HSA+Cys); 2D. Irreversibly cysteinylated albumin (HSA+S03H)

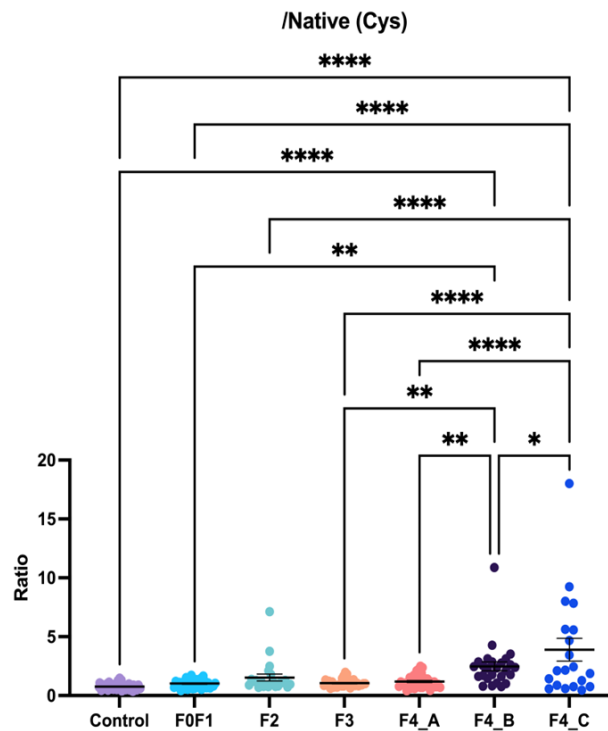


Figure 6 - Ratio concentration of oxidized albumin isoform normalized to native albumin as a function of fibrosis stage

Principal component analysis (PCA) was used to explore the combination of results obtained with all isoforms profile (Figure 7). It showed a separation between the control group and the

different stages of fibrosis. However, at each stage, the difference was not clear-cut for all patients.

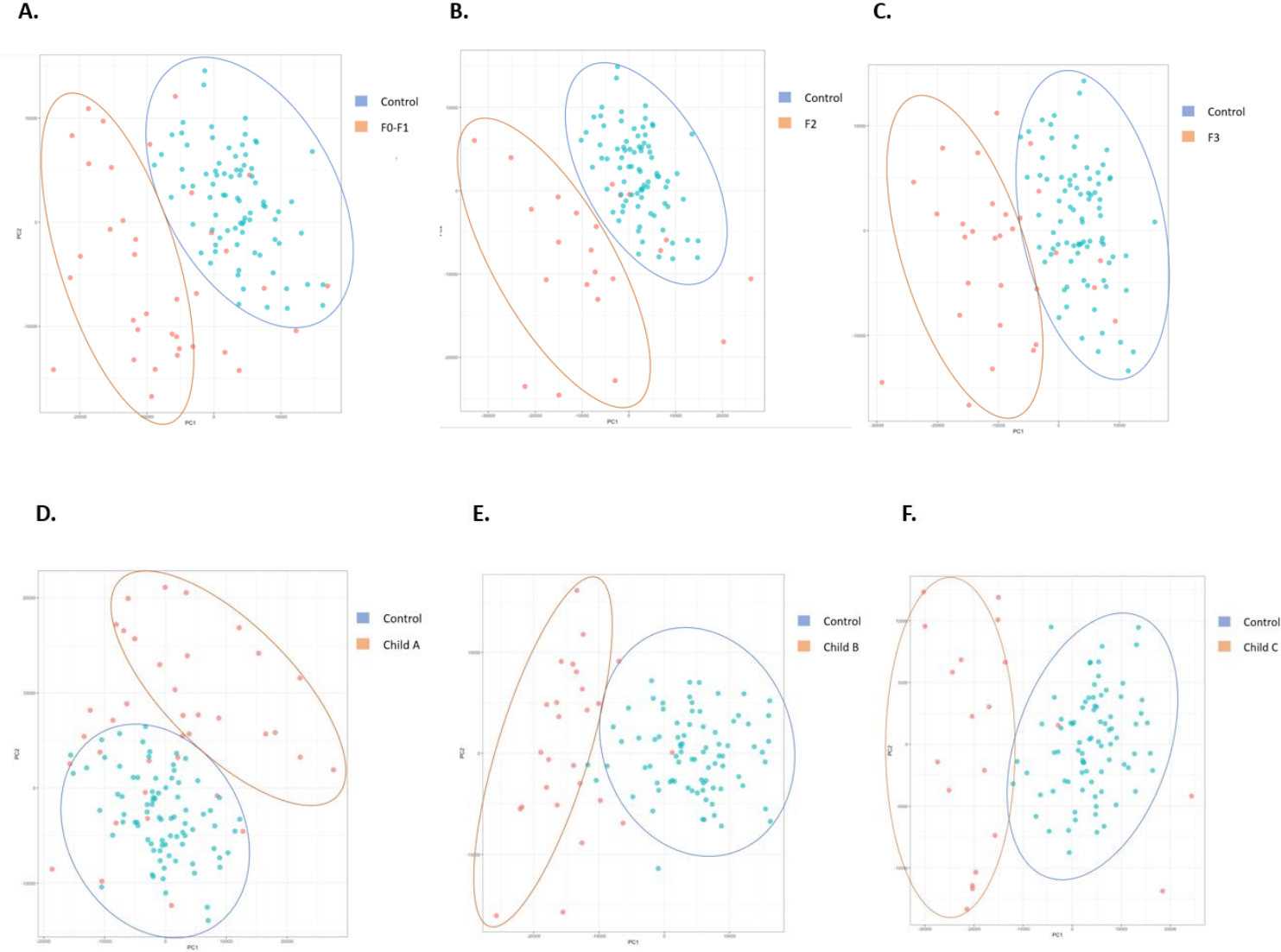


Figure 7 - Principal component analysis (PCA) of isoform profile by fibrosis stage
 A. F0-F1 B. F2 C.F3 D. Child-Pugh A E. Child-Pugh B F. Child-Pugh C

III.4. Discussion

The originality of this study was to have for the first time, described the distribution of albumin isoforms in the different stages of liver disease, including the earliest stages of liver fibrosis. For most of the identified isoforms, we have schematically demonstrated a difference in the distribution of albumin isoforms between controls and patients with different stages of fibrosis. However, the average concentrations of several isoforms were not significantly different between the different stages of fibrosis when considered alone. Native albumin concentrations could be used as a reliable biomarker for the diagnosis of CPB and CPC, in agreement with the recent observations of Baldassare et al who showed that it is essentially a biomarker of decompensated disease, CPB and CPC groups [97]. However, it should yield a low sensitivity and specificity for the diagnosis of earlier stages of fibrosis. Several studies have evaluated

other biomarkers of hepatotoxicity which have however limitations: GLDH (glutamate dehydrogenase), a protein specific of hepatocytes' mitochondrial matrix, rather indicates acute damage [104] [100]. K18 (keratin 18), a filamentary protein present in large numbers of hepatocytes, and released during necrosis, shows numerous false positives due to inflammation, chronic renal failure, lung cancer, ENT, etc. [107] [106]. MicroRNA 122, the most studied marker, represents 70% of hepatic miRNAs and correlates with the severity of liver function; however, a considerable inter- and intra-individual variability in healthy volunteers has been highlighted, and its expression depends on the etiology of hepatotoxicity [109] - [113]. These biomarkers have also been studied in drug-induced liver injury (DILI). For example, microRNA-122 is sensitive for early detection of liver injury in acetaminophen overdose patients [144].

When we focus on the average concentrations of each isoform, the results can be summarized as follows:

- the N-terminal truncated albumin (HSA-DA) and the cysteinylated and glycosylated isoform (HSA-CYS-GLYCx2) average concentrations are significantly different in all stages of fibrosis in comparison to control patients. However, despite the observation of a trend correlating the severity of the fibrosis to the isoform's concentration, the differences were not significant between all the subgroups as shown in figure 5.

- Of interest, the irreversible cysteinylated isoform (HAS-SO3H) concentration is clearly impacted by the decompensation of cirrhosis and was lower than in all other stages of the disease. When the average concentration of irreversible cysteinylated isoform was standardized on native albumin, we then observed a significant increase of the ratio of this isoform in decompensated cirrhotic patients, which may appear contradictory. Albumin isoforms subject to oxidative stress tend to increase with the progression of liver disease and even more markedly in decompensated forms. However, simultaneously, total albumin (including native albumin) also decreases, probably more significantly, which can explain the apparent contradiction observed above.

With these observations, we can anticipate that the use of one single isoform will not be sufficient to discriminate the subgroups of patients. In addition, the concentrations of HSA isoforms are inter-dependent. Although the apparition of certain isoforms is related to the chemical environment of the hepatocytes, the increase or the decrease of one isoform could affect the concentrations of another. Therefore, the considering all the isoforms of HSA for each patient is mandatory. The principal component analysis (PCA) study, examining the combination of all isoforms, showed a global separation between the control group and each fibrosis stage, even if a dispersion of results was observed for some patients.

Thus, our results confirm that albumin should be considered as a network of isoforms and that the concentration of each isoform should not be considered alone to accurately predict the different fibrosis stages. It remains to determine the relevance of association of these isoforms to achieve our objectives.

Our results agree with previous studies. It has already been proven that cirrhosis is associated with post-transcriptional changes in human albumin, which alter the function of albumin. Native albumin, the only isoform which has structural and functional integrity, is progressively reduced whereas other isoforms increased [92]. The most frequent are due to oxidation, glycation and C- or N-terminal truncation [91]. In advanced cirrhosis and sepsis, reversible and irreversible oxidation of Cys 34 is increased. Its level correlates with liver function. Irreversible oxidation is

predictive of survival at 30 and 90 days [94]. The presence of three homodimers (N- and C-terminal truncated albumin, and native albumin) is more abundant in patients with cirrhosis or acute liver failure. Their concentration correlates with the prognostic scores [98]. The albumin profile differs between patients with chronic and acute liver failure. The "albuminome" signature, regarding albumin isoforms signature, could even distinguish those with early mortality [145]. Our study was not focused on predicting prognosis, but we intend to evaluate it in a future ongoing cohort (Malhabar) impact.

Also, we chose, in our study to focus on albumin isoforms as biomarkers to determine different liver fibrosis stages and possibly prognosis, because the method has the advantage to be non-invasive, rapid, obtained through routine blood sampling. Results are available at 20min. As albumin is produced exclusively by hepatocytes, albumin isoforms are considered as specific biomarkers [146].

Thus isoforms of albumin are a promising opportunity even if our results are still preliminary.

Our study has its limitations.

Firstly, we are underpowered in this preliminary study due to the small number of patients included (172 patients). Secondly, there is a probable inclusion bias, linked to a possible fibrosis misclassification, concerning some patients. This hypothesis is supported by the wide dispersion of native albumin concentration in group F2 (figure 4A). When the F2 and F3 groups are combined, there is a significant difference in native albumin concentration between the control and F2/F3 groups. This is keeping with the data from the principal component analyses. A clear separation is observed between the profiles of the control group and the different stages of fibrosis. But in each group, some patients appear to be misclassified.

This may be related to the reference method used for the diagnosis of fibrosis. Most fibrosis stages were determined by liver elastometry (FibroScan) and the cirrhosis severity scores by clinical and biological data. FibroScan has a good positive predictive value for F3 and F4 stages, but a less accuracy to distinguish F2 from F0/F1 fibrosis [49]. Liver biopsy, which remains the gold standard, could have overcome this difficulty. However, the biopsy is invasive not devoid of morbidity and is very often proposed only if essential for the therapeutic decision. Moreover, it should be noted that this tool is also imperfect due to lesion heterogeneity in the liver, the size of the biopsy, and an inter-observer variability in interpretation [36] [35].

Thirdly, there was also a selection bias of the patients. Two main etiologies predominate in our population, corresponding to usual data observed in western countries: NASH and chronic alcohol consumption (Table 1) [147] [148]. Chronic alcohol consumption predominates in the most severe patients, while in the earliest stages, patients present predominantly with NASH. Other etiologies are varied.

Other studies on albumin, based on a different approach, aiming fixation capacities, are currently led in the department. One showed a different binding capacity for a range of ligands (Cu, Cd, Au, Ds and L-T4) depending on the individual semi-synthetic isoforms. Immunoturbidimetry is insensitive to the presence and abundance of the different isoforms [149].

We are so conducting a hospital-based clinical research program (PHRC) on albumin isoforms in many of patients with more various etiologies, with the main objective of predicting the prognosis of liver damage at 3 years in patients with advanced liver disease and overcoming the difficulties of interpreting non-invasive fibrosis tests.

IV. Conclusion

Our study was a proof-of-concept study, based on HSA modifications within liver disease progression. Our results suggest that HSA isoforms used separately for the diagnosis of liver fibrosis is not sufficient since HSA isoforms are interdependent and that HSA isoforms should be considered as a network and exploited through a mapping approach of these isoforms. This will help correlating the association of HSA isoforms according to the different fibrosis stages.

Further studies are necessary, with more selective criteria to refine the prognostic role of albumin isoforms.

Their potential usefulness in the etiological approach of liver diseases is also ongoing based on post-translational modifications and interesting in albumin capacities to bind some specific markers in a panel of different liver diseases.

Références bibliographiques

- [1] W. R et al., « Addressing liver disease in the UK: a blueprint for attaining excellence in health care and reducing premature mortality from lifestyle issues of excess consumption of alcohol, obesity, and viral hepatitis », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 384, no 9958, nov. 2014, doi: 10.1016/S0140-6736(14)61838-9.
- [2] P. Bedossa et T. Poynard, « An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group », *Hepatology*, vol. 24, no 2, p. 289-293, août 1996, doi: 10.1002/hep.510240201.
- [3] R. de Franchis et Baveno VI Faculty, « Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension », *J. Hepatology*, vol. 63, no 3, p. 743-752, sept. 2015, doi: 10.1016/j.jhep.2015.05.022.
- [4] « Cirrhose | SNFGE.org - Société savante médicale française d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive ». <https://www.snfge.org/content/cirrhose-0>
- [5] N. Ganne-Carrié, « [Epidemiology of liver cirrhosis] », *Rev. Prat.*, vol. 67, no 7, p. 726-730, sept. 2017.
- [6] L. Caballería et al., « High Prevalence of Liver Fibrosis Among European Adults With Unknown Liver Disease: A Population-Based Study », *Clin. Gastroenterol. Hepatology*, vol. 16, no 7, p. 1138-1145.e5, juill. 2018, doi: 10.1016/j.cgh.2017.12.048.
- [7] J. Boursier, « Faut-il dépister la fibrose hépatique en population générale ?- ».
- [8] E. M. Koehler et al., « Presence of diabetes mellitus and steatosis is associated with liver stiffness in a general population: The Rotterdam study », *Hepatology*, vol. 63, no 1, p. 138-147, 2016, doi: 10.1002/hep.27981.
- [9] D. Roulot et al., « Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years », *Gut*, vol. 60, no 7, p. 977-984, juill. 2011, doi: 10.1136/gut.2010.221382.
- [10] T. Poynard et al., « Prevalence of liver fibrosis and risk factors in a general population using non-invasive biomarkers (FibroTest) », *BMC Gastroenterol.*, vol. 10, p. 40, avr. 2010, doi: 10.1186/1471-230X-10-40.
- [11] G. Pennisi et al., « Liver-related and extrahepatic events in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a retrospective competing risks analysis », *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 55, no 5, p. 604-615, mars 2022, doi: 10.1111/apt.16763.
- [12] A. Sawadogo, N. Dib, et P. Cales, « Physiopathologie de la cirrhose et de ses complications », *Réanimation*, vol. 16, no 7-8, p. 557-562, nov. 2007, doi: 10.1016/j.reaurg.2007.09.001.
- [13] S. L. Friedman, « Liver fibrosis – from bench to bedside », *J. Hepatology*, vol. 38, p. 38-53, janv. 2003, doi: 10.1016/S0168-8278(02)00429-4.
- [14] T. Tsuchida et S. L. Friedman, « Mechanisms of hepatic stellate cell activation », *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatology*, vol. 14, no 7, Art. no 7, juill. 2017, doi: 10.1038/nrgastro.2017.38.
- [15] M. Zhang, S. Serna-Salas, T. Damba, M. Borghesan, M. Demaria, et H. Moshage, « Hepatic stellate cell senescence in liver fibrosis: Characteristics, mechanisms and

perspectives », *Mech. Ageing Dev.*, vol. 199, p. 111572, oct. 2021, doi: 10.1016/j.mad.2021.111572.

[16] M. El-Kassas, R. Samir, et A. Elsharkawy, « Fibrosis regression following hepatitis C antiviral therapy », *World J. Hepatol.*, vol. 14, no 6, p. 1120-1130, juin 2022, doi: 10.4254/wjh.v14.i6.1120.

[17] E. D. Bethea et S. Chopra, « Chapter 11 - Cirrhosis and Portal Hypertension », in *Handbook of Liver Disease (Fourth Edition)*, L. S. Friedman et P. Martin, Éd., Elsevier, 2018, p. 158-171. doi: 10.1016/B978-0-323-47874-8.00011-0.

[18] P. Ginès, A. Krag, J. G. Abraldes, E. Solà, N. Fabrellas, et P. S. Kamath, « Liver cirrhosis », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 398, no 10308, p. 1359-1376, oct. 2021, doi: 10.1016/S0140-6736(21)01374-X.

[19] « Cirrhose · Inserm, La science pour la santé », Inserm. <https://www.inserm.fr/dossier/cirrhose/>

[20] Y. Iwakiri, « Pathophysiology of Portal Hypertension », *Clin. Liver Dis.*, vol. 18, no 2, p. 281-291, mai 2014, doi: 10.1016/j.cld.2013.12.001.

[21] « EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis », *J. Hepatol.*, vol. 53, no 3, p. 397-417, sept. 2010, doi: 10.1016/j.jhep.2010.05.004.

[22] R. de Franchis et al., « Baveno VII – Renewing consensus in portal hypertension », *J. Hepatol.*, vol. 76, no 4, p. 959-974, avr. 2022, doi: 10.1016/j.jhep.2021.12.022.

[23] M. Romero-Gómez, S. Montagnese, et R. Jalan, « Hepatic encephalopathy in patients with acute decompensation of cirrhosis and acute-on-chronic liver failure », *J. Hepatol.*, vol. 62, no 2, p. 437-447, févr. 2015, doi: 10.1016/j.jhep.2014.09.005.

[24] « Hepatic Encephalopathy in Chronic Liver Disease: 2014 Practice Guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases », *J. Hepatol.*, vol. 61, no 3, p. 642-659, sept. 2014, doi: 10.1016/j.jhep.2014.05.042.

[25] R. K. Prakash, S. Kanna, et K. D. Mullen, « Evolving Concepts: The Negative Effect of Minimal Hepatic Encephalopathy and Role for Prophylaxis in Patients With Cirrhosis », *Clin. Ther.*, vol. 35, no 9, p. 1458-1473, sept. 2013, doi: 10.1016/j.clinthera.2013.07.421.

[26] J. Jacques, P. Carrier, M. Debette-Gratien, R. Sobesky, et V. Loustaud-Ratti, « [Hepatic encephalopathy] », *Presse Medicale Paris Fr.* 1983, vol. 45, no 1, p. 46-59, janv. 2016, doi: 10.1016/j.lpm.2015.02.021.

[27] N. Weiss, R. Jalan, et D. Thabut, « Understanding hepatic encephalopathy », *Intensive Care Med.*, vol. 44, no 2, p. 231-234, févr. 2018, doi: 10.1007/s00134-017-4845-6.

[28] « Hepatic Encephalopathy in Chronic Liver Disease: 2014 Practice Guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases », *J. Hepatol.*, vol. 61, no 3, p. 642-659, sept. 2014, doi: 10.1016/j.jhep.2014.05.042.

[29] S. Montagnese et al., « EASL Clinical Practice Guidelines on the management of hepatic encephalopathy », *J. Hepatol.*, vol. 77, no 3, p. 807-824, sept. 2022, doi: 10.1016/j.jhep.2022.06.001.

- [30] D. Issa et N. Alkhoury, « Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: new insights on presentation and natural history », *Hepatobiliary Surg. Nutr.*, vol. 6, no 6, p. 401-403, déc. 2017, doi: 10.21037/hbsn.2017.07.07.
- [31] J. K. Heimbach et al., « AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma », *Hepatology*, vol. 67, no 1, p. 358-380, janv. 2018, doi: 10.1002/hep.29086.
- [32] J. M. Llovet et al., « Sorafenib in Advanced Hepatocellular Carcinoma », *N. Engl. J. Med.*, vol. 359, no 4, p. 378-390, juill. 2008, doi: 10.1056/NEJMoa0708857.
- [33] J. F. Blanc et al., « Hepatocellular carcinoma: French Intergroup Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up (SNFGE, FFCD, GERCOR, UNICANCER, SFCD, SFED, SFRO, AFEF, SIAD, SFR/FRI) », *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, vol. 45, no 2, p. 101590, mars 2021, doi: 10.1016/j.clinre.2020.101590.
- [34] J. Potet et al., « Prise en charge du risque hémostatique au cours des actes de radiologie interventionnelle », *J. Radiol.*, vol. 92, no 7, p. 659-670, juill. 2011, doi: 10.1016/j.jradio.2011.05.006.
- [35] L. Skladaný, P. Jarcuska, M. Oltman, et S. Hrusovský, « [Percutaneous biopsy of the liver] », *Vnitr. Lek.*, vol. 49, no 8, p. 679-683, août 2003.
- [36] G. Sebastiani, « Non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver diseases: Implementation in clinical practice and decisional algorithms », *World J. Gastroenterol. WJG*, vol. 15, no 18, p. 2190-2203, mai 2009, doi: 10.3748/wjg.15.2190.
- [37] R. G. Knodell et al., « Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis », *Hepatology*, vol. 1, no 5, p. 431-435, 1981, doi: 10.1002/hep.1840010511.
- [38] L. Castéra et al., « Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C », *Gastroenterology*, vol. 128, no 2, p. 343-350, févr. 2005, doi: 10.1053/j.gastro.2004.11.018.
- [39] C.-T. Wai et al., « A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C », *Hepatology*, vol. 38, no 2, p. 518-526, août 2003, doi: 10.1053/jhep.2003.50346.
- [40] A. Vallet-Pichard et al., « FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest », *Hepatology*, vol. 46, no 1, p. 32-36, juill. 2007, doi: 10.1002/hep.21669.
- [41] P. Angulo et al., « The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD », *Hepatology*, vol. 45, no 4, p. 846-854, avr. 2007, doi: 10.1002/hep.21496.
- [42] J. Boursier et al., « A stepwise algorithm using an at-a-glance first-line test for the non-invasive diagnosis of advanced liver fibrosis and cirrhosis », *J. Hepatol.*, vol. 66, no 6, p. 1158-1165, juin 2017, doi: 10.1016/j.jhep.2017.01.003.
- [43] X. Forns et al., « Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model », *Hepatology*, vol. 36, no 4 Pt 1, p. 986-992, oct. 2002, doi: 10.1053/jhep.2002.36128.

- [44] W. M. C. Rosenberg et al., « Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study », *Gastroenterology*, vol. 127, no 6, p. 1704-1713, déc. 2004, doi: 10.1053/j.gastro.2004.08.052.
- [45] F. Imbert-Bismut et al., « Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 357, no 9262, p. 1069-1075, avr. 2001, doi: 10.1016/S0140-6736(00)04258-6.
- [46] P. Calès et al., « Evaluating the accuracy and increasing the reliable diagnosis rate of blood tests for liver fibrosis in chronic hepatitis C », *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver*, vol. 28, no 10, p. 1352-1362, déc. 2008, doi: 10.1111/j.1478-3231.2008.01789.x.
- [47] L. A. Adams et al., « Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection », *Clin. Chem.*, vol. 51, no 10, p. 1867-1873, oct. 2005, doi: 10.1373/clinchem.2005.048389.
- [48] L. Sandrin et al., « Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis », *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 29, no 12, p. 1705-1713, déc. 2003, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2003.07.001.
- [49] C. F. Dietrich et al., « EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version) », *Ultraschall Med. - Eur. J. Ultrasound*, vol. 38, no 4, p. e16-e47, août 2017, doi: 10.1055/s-0043-103952.
- [50] J. Boursier, M. Decraecker, M. Bourlière, C. Bureau, N. Ganne-Carrié, et V. de Lédinghen, « Quality criteria for the measurement of liver stiffness », *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, vol. 46, no 1, p. 101761, janv. 2022, doi: 10.1016/j.clinre.2021.101761.
- [51] V. R. Loustaud-Ratti et al., « Non-invasive detection of hepatic amyloidosis: FibroScan, a new tool », *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig. Off. J. Int. Soc. Amyloidosis*, vol. 18, no 1, p. 19-24, mars 2011, doi: 10.3109/13506129.2010.543443.
- [52] J. Boursier, M. Decraecker, M. Bourlière, C. Bureau, N. Ganne-Carrié, et V. de Lédinghen, « Quality criteria for the measurement of liver stiffness », *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, vol. 46, no 1, p. 101761, janv. 2022, doi: 10.1016/j.clinre.2021.101761.
- [53] A. J. Sanyal et al., « Enhanced diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis in individuals with NAFLD using FibroScan-based Agile scores », *J. Hepatol.*, vol. 78, no 2, p. 247-259, févr. 2023, doi: 10.1016/j.jhep.2022.10.034.
- [54] J. Boursier et al., « New sequential combinations of non-invasive fibrosis tests provide an accurate diagnosis of advanced fibrosis in NAFLD », *J. Hepatol.*, vol. 71, no 2, p. 389-396, août 2019, doi: 10.1016/j.jhep.2019.04.020.
- [55] P. N. Newsome et al., « FibroScan-AST (FAST) score for the non-invasive identification of patients with non-alcoholic steatohepatitis with significant activity and fibrosis: a prospective derivation and global validation study », *Lancet Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 5, no 4, p. 362-373, avr. 2020, doi: 10.1016/S2468-1253(19)30383-8.
- [56] M. Nouredin et al., « MRI-based (MAST) score accurately identifies patients with NASH and significant fibrosis », *J. Hepatol.*, vol. 76, no 4, p. 781-787, avr. 2022, doi: 10.1016/j.jhep.2021.11.012.

- [57] A. Berzigotti et al., « EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update », *J. Hepatol.*, vol. 75, no 3, p. 659-689, sept. 2021, doi: 10.1016/j.jhep.2021.05.025.
- [58] J. Boursier et al., « Non-invasive diagnosis and follow-up of non-alcoholic fatty liver disease », *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, vol. 46, no 1, p. 101769, janv. 2022, doi: 10.1016/j.clinre.2021.101769.
- [59] « Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 20, no 1, p. 15-20, juill. 1994.
- [60] J. Boursier et al., « Non-invasive tests accurately stratify patients with NAFLD based on their risk of liver-related events », *J. Hepatol.*, vol. 76, no 5, p. 1013-1020, mai 2022, doi: 10.1016/j.jhep.2021.12.031.
- [61] C. M. Canivet et al., « Validation of the new 2021 EASL algorithm for the noninvasive diagnosis of advanced fibrosis in NAFLD », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 77, no 3, p. 920-930, mars 2023, doi: 10.1002/hep.32665.
- [62] R. N. Pugh, I. M. Murray-Lyon, J. L. Dawson, M. C. Pietroni, et R. Williams, « Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices », *Br. J. Surg.*, vol. 60, no 8, p. 646-649, août 1973, doi: 10.1002/bjs.1800600817.
- [63] J. G. Turcotte et C. G. Child, « Portal hypertension. Pathogenesis, management and prognosis », *Postgrad. Med.*, vol. 41, no 1, p. 93-102, janv. 1967, doi: 10.1080/00325481.1967.11696107.
- [64] C. Infante-Rivard, S. Esnaola, et J. P. Villeneuve, « Clinical and statistical validity of conventional prognostic factors in predicting short-term survival among cirrhotics », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 7, no 4, p. 660-664, 1987, doi: 10.1002/hep.1840070408.
- [65] A. Tsoris et C. A. Marlar, « Use Of The Child Pugh Score In Liver Disease », in *StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*, 2023 Jan–. PMID: 31194448.
- [66] P. S. Kamath et al., « A model to predict survival in patients with end-stage liver disease », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 33, no 2, p. 464-470, févr. 2001, doi: 10.1053/jhep.2001.22172.
- [67] W. R. Kim et al., « MELD 3.0: The Model for End-Stage Liver Disease Updated for the Modern Era », *Gastroenterology*, vol. 161, no 6, p. 1887-1895.e4, déc. 2021, doi: 10.1053/j.gastro.2021.08.050.
- [68] D. Samuel et T. M. Antonini, « Samuel D, Antonini TM. Greffe de foie [Liver transplantation]. *Rev Prat.* 2007 Feb 15;57(3):280-6. French. PMID: 17578028. », *Rev. Prat.*, vol. 57, no 3, p. 280-286, févr. 2007.
- [69] R. M. Merion, D. E. Schaubel, D. M. Dykstra, R. B. Freeman, F. K. Port, et R. A. Wolfe, « The survival benefit of liver transplantation », *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.*, vol. 5, no 2, p. 307-313, févr. 2005, doi: 10.1111/j.1600-6143.2004.00703.x.
- [70] S. Bernards et al., « Awarding additional MELD points to the shortest waitlist candidates improves sex disparity in access to liver transplant in the United States », *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.*, vol. 22, no 12, p. 2912-2920, déc. 2022, doi: 10.1111/ajt.17159.

- [71] A. Coilly, « Transplantation hépatique : quand y penser ? », FMC-HGE. <https://www.fmcgastro.org/texte-postu/postu-2023/transplantation-hepatique-quand-y-penser>.
- [72] P. J. Johnson et al., « Assessment of liver function in patients with hepatocellular carcinoma: a new evidence-based approach-the ALBI grade », *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 33, no 6, p. 550-558, févr. 2015, doi: 10.1200/JCO.2014.57.9151.
- [73] M. Deng, S. W. Y. Ng, S. T. Cheung, et C. C. N. Chong, « Clinical application of Albumin-Bilirubin (ALBI) score: The current status », *Surg. J. R. Coll. Surg. Edinb. Irel.*, vol. 18, no 3, p. 178-186, juin 2020, doi: 10.1016/j.surge.2019.09.002.
- [74] S. Zhao et al., « Comparison of albumin-bilirubin grade versus Child-Pugh score in predicting the outcome of transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma using time-dependent ROC », *Ann. Transl. Med.*, vol. 8, no 8, p. 538, avr. 2020, doi: 10.21037/atm.2020.02.124.
- [75] G. D'Amico, G. Garcia-Tsao, et L. Pagliaro, « Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: A systematic review of 118 studies », *J. Hepatol.*, vol. 44, no 1, p. 217-231, janv. 2006, doi: 10.1016/j.jhep.2005.10.013.
- [76] P. Angeli et al., « EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis », *J. Hepatol.*, vol. 69, no 2, p. 406-460, août 2018, doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.024.
- [77] G. Castro-Narro et al., « Position statement on the use of albumin in liver cirrhosis », *Ann. Hepatol.*, vol. 27, no 4, p. 100708, 2022, doi: 10.1016/j.aohp.2022.100708.
- [78] C. Bertucci et E. Domenici, « Reversible and covalent binding of drugs to human serum albumin: methodological approaches and physiological relevance », *Curr. Med. Chem.*, vol. 9, no 15, p. 1463-1481, août 2002, doi: 10.2174/0929867023369673.
- [79] G. Fanali, A. di Masi, V. Trezza, M. Marino, M. Fasano, et P. Ascenzi, « Human serum albumin: From bench to bedside », *Mol. Aspects Med.*, vol. 33, no 3, p. 209-290, juin 2012, doi: 10.1016/j.mam.2011.12.002.
- [80] F. Wong, « Drug insight: the role of albumin in the management of chronic liver disease », *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 4, no 1, p. 43-51, janv. 2007, doi: 10.1038/ncpgasthep0680.
- [81] R. Garcia-Martinez, P. Caraceni, M. Bernardi, P. Gines, V. Arroyo, et R. Jalan, « Albumin: pathophysiologic basis of its role in the treatment of cirrhosis and its complications », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 58, no 5, p. 1836-1846, nov. 2013, doi: 10.1002/hep.26338.
- [82] P. Caraceni, A. O'Brien, et P. Gines, « Long-term albumin treatment in patients with cirrhosis and ascites », *J. Hepatol.*, vol. 76, no 6, p. 1306-1317, juin 2022, doi: 10.1016/j.jhep.2022.03.005.
- [83] M. Bernardi et al., « Albumin in decompensated cirrhosis: new concepts and perspectives », *Gut*, vol. 69, no 6, p. 1127-1138, juin 2020, doi: 10.1136/gutjnl-2019-318843.
- [84] J. R. Carvalho et M. Verdelho Machado, « New Insights About Albumin and Liver Disease », *Ann. Hepatol.*, vol. 17, no 4, p. 547-560, août 2018, doi: 10.5604/01.3001.0012.0916.

- [85] R. Spinella, R. Sawhney, et R. Jalan, « Albumin in chronic liver disease: structure, functions and therapeutic implications », *Hepatol. Int.*, vol. 10, no 1, p. 124-132, janv. 2016, doi: 10.1007/s12072-015-9665-6.
- [86] F. Kouoh et al., « Antioxidant properties of albumin: effect on oxidative metabolism of human neutrophil granulocytes », *Farm. Soc. Chim. Ital.* 1989, vol. 54, no 10, p. 695-699, oct. 1999, doi: 10.1016/s0014-827x(99)00082-8.
- [87] G. J. Quinlan, G. S. Martin, et T. W. Evans, « Albumin: biochemical properties and therapeutic potential », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 41, no 6, p. 1211-1219, juin 2005, doi: 10.1002/hep.20720.
- [88] S. Jaisson, C. Delevallée-Forte, F. Touré, P. Rieu, R. Garnotel, et P. Gillery, « Carbamylated albumin is a potent inhibitor of polymorphonuclear neutrophil respiratory burst », *FEBS Lett.*, vol. 581, no 7, p. 1509-1513, avr. 2007, doi: 10.1016/j.febslet.2007.03.008.
- [89] G. J. Quinlan, G. S. Martin, et T. W. Evans, « Albumin: biochemical properties and therapeutic potential », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 41, no 6, p. 1211-1219, juin 2005, doi: 10.1002/hep.20720.
- [90] J. Ramirez-Vick et F. F. Vargas, « Albumin modulation of paracellular permeability of pig vena caval endothelium shows specificity for pig albumin », *Am. J. Physiol.*, vol. 264, no 5 Pt 2, p. H1382-1387, mai 1993, doi: 10.1152/ajpheart.1993.264.5.H1382.
- [91] M. Naldi, M. Baldassarre, M. Domenicali, M. Bartolini, et P. Caraceni, « Structural and functional integrity of human serum albumin: Analytical approaches and clinical relevance in patients with liver cirrhosis », *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 144, p. 138-153, sept. 2017, doi: 10.1016/j.jpba.2017.04.023.
- [92] M. Domenicali et al., « Posttranscriptional changes of serum albumin: clinical and prognostic significance in hospitalized patients with cirrhosis », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 60, no 6, p. 1851-1860, déc. 2014, doi: 10.1002/hep.27322.
- [93] M.-A. Rahali et al., « Posttranslational-modifications of human-serum-albumin analysis by a top-down approach validated by a comprehensive bottom-up analysis », *J. Chromatogr. B*, vol. 1224, p. 123740, mai 2023, doi: 10.1016/j.jchromb.2023.123740.
- [94] K. Oettl et al., « Oxidative albumin damage in chronic liver failure: Relation to albumin binding capacity, liver dysfunction and survival », *J. Hepatol.*, vol. 59, no 5, p. 978-983, nov. 2013, doi: 10.1016/j.jhep.2013.06.013.
- [95] J. Alcaraz-Quiles et al., « Oxidized Albumin Triggers a Cytokine Storm in Leukocytes Through P38 Mitogen-Activated Protein Kinase: Role in Systemic Inflammation in Decompensated Cirrhosis », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 68, no 5, p. 1937-1952, nov. 2018, doi: 10.1002/hep.30135.
- [96] M. Naldi et al., « Mass spectrometric characterization of human serum albumin dimer: A new potential biomarker in chronic liver diseases », *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 112, p. 169-175, août 2015, doi: 10.1016/j.jpba.2014.12.001.
- [97] M. Baldassarre et al., « Albumin Homodimers in Patients with Cirrhosis: Clinical and Prognostic Relevance of a Novel Identified Structural Alteration of the Molecule », *Sci. Rep.*, vol. 6, p. 35987, oct. 2016, doi: 10.1038/srep35987.

- [98] M. Baldassarre et al., « Determination of Effective Albumin in Patients With Decompensated Cirrhosis: Clinical and Prognostic Implications », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 74, no 4, p. 2058-2073, oct. 2021, doi: 10.1002/hep.31798.
- [99] R. Jalan et al., « Alterations in the functional capacity of albumin in patients with decompensated cirrhosis is associated with increased mortality », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 50, no 2, p. 555-564, août 2009, doi: 10.1002/hep.22913.
- [100] R. Singhal, A. H. Harrill, F. Menguy-Vacheron, Z. Jayyosi, H. Benzerdjeb, et P. B. Watkins, « Benign elevations in serum aminotransferases and biomarkers of hepatotoxicity in healthy volunteers treated with cholestyramine », *BMC Pharmacol. Toxicol.*, vol. 15, p. 42, août 2014, doi: 10.1186/2050-6511-15-42.
- [101] Metushi IG, Sanders C; Acute Liver Study Group; Lee WM, Uetrecht J. Detection of anti-isoniazid and anti-cytochrome P450 antibodies in patients with isoniazid-induced liver failure. *Hepatology*. 2014 Mar;59(3):1084-93. doi: 10.1002/hep.26564. Epub 2014 Jan 27.
- [102] P. Thulin et al., « A longitudinal assessment of miR-122 and GLDH as biomarkers of drug-induced liver injury in the rat », *Biomark. Biochem. Indic. Expo. Response Susceptibility Chem.*, vol. 22, no 5, p. 461-469, juill. 2017, doi: 10.1080/1354750X.2016.1269131.
- [103] I. G. Metushi, C. Sanders, W. M. Lee, et J. Uetrecht, « Detection of Anti-Isoniazid and Anti-CYP Antibodies in Patients with Isoniazid-Induced Liver Failure », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 59, no 3, p. 1084-1093, mars 2014, doi: 10.1002/hep.26564.
- [104] S. Schomaker et al., « Assessment of Emerging Biomarkers of Liver Injury in Human Subjects », *Toxicol. Sci.*, vol. 132, no 2, p. 276-283, avr. 2013, doi: 10.1093/toxsci/kft009.
- [105] P. Thulin et al., « Keratin-18 and microRNA-122 complement alanine aminotransferase as novel safety biomarkers for drug-induced liver injury in two human cohorts », *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver*, vol. 34, no 3, p. 367-378, mars 2014, doi: 10.1111/liv.12322.
- [106] D. Leberz-Eichinger, C. G. Krenn, et G. A. Roth, « Keratin 18 and heat-shock protein in chronic kidney disease », *Adv. Clin. Chem.*, vol. 62, p. 123-149, 2013, doi: 10.1016/b978-0-12-800096-0.00003-2.
- [107] B. Zhang et al., « Cytokeratin 18 knockdown decreases cell migration and increases chemosensitivity in non-small cell lung cancer », *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, vol. 142, no 12, p. 2479-2487, déc. 2016, doi: 10.1007/s00432-016-2253-x.
- [108] T. Tadokoro, A. Morishita, et T. Masaki, « Diagnosis and Therapeutic Management of Liver Fibrosis by MicroRNA », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no 15, Art. no 15, janv. 2021, doi: 10.3390/ijms22158139.
- [109] S. Starckx et al., « Evaluation of miR-122 and other biomarkers in distinct acute liver injury in rats », *Toxicol. Pathol.*, vol. 41, no 5, p. 795-804, juill. 2013, doi: 10.1177/0192623312464436.
- [110] E. Cione, D. M. Abrego Guandique, M. C. Caroleo, F. Luciani, M. Colosimo, et R. Cannataro, « Liver Damage and microRNAs: An Update », *Curr. Issues Mol. Biol.*, vol. 45, no 1, Art. no 1, janv. 2023, doi: 10.3390/cimb45010006.
- [111] X. Wang, Y. He, B. Mackowiak, et B. Gao, « MicroRNAs as regulators, biomarkers and therapeutic targets in liver diseases », *Gut*, vol. 70, no 4, p. 784-795, avr. 2021, doi: 10.1136/gutjnl-2020-322526.

- [112] K. Jampoka, P. Muangpaisarn, K. Khongnomnan, S. Treeprasertsuk, P. Tangkijvanich, et S. Payungporn, « Serum miR-29a and miR-122 as Potential Biomarkers for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) », *MicroRNA*, vol. 7, no 3, p. 215-222.
- [113] D. Loureiro, I. Tout, S. Narguet, S. M. Benazzouz, A. Mansouri, et T. Asselah, « miRNAs as Potential Biomarkers for Viral Hepatitis B and C », *Viruses*, vol. 12, no 12, Art. no 12, déc. 2020, doi: 10.3390/v12121440.
- [114] W. R. Kim et al., « MELD 3.0: The Model for End-Stage Liver Disease Updated for the Modern Era », *Gastroenterology*, vol. 161, no 6, p. 1887-1895.e4, déc. 2021, doi: 10.1053/j.gastro.2021.08.050.
- [115] C. Ripoll, K. Bari, et G. Garcia-Tsao, « Serum Albumin Can Identify Patients With Compensated Cirrhosis With a Good Prognosis », *J. Clin. Gastroenterol.*, vol. 49, no 7, p. 613-619, août 2015, doi: 10.1097/MCG.000000000000207.
- [116] V. Arroyo et al., « Acute-on-chronic liver failure in cirrhosis », *Nat. Rev. Dis. Primer*, vol. 2, p. 16041, juin 2016, doi: 10.1038/nrdp.2016.41.
- [117] European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu et European Association for the Study of the Liver, « EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis », *J. Hepatol.*, vol. 69, no 2, p. 406-460, août 2018, doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.024.
- [118] P. Sort et al., « Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis », *N. Engl. J. Med.*, vol. 341, no 6, p. 403-409, août 1999, doi: 10.1056/NEJM199908053410603.
- [119] F. Wong et al., « Terlipressin plus Albumin for the Treatment of Type 1 Hepatorenal Syndrome », *N. Engl. J. Med.*, vol. 384, no 9, p. 818-828, mars 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2008290.
- [120] M. Bernardi, P. Caraceni, R. J. Navickis, et M. M. Wilkes, « Albumin infusion in patients undergoing large-volume paracentesis: a meta-analysis of randomized trials », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 55, no 4, p. 1172-1181, avr. 2012, doi: 10.1002/hep.24786.
- [121] P. Ginès et al., « Randomized comparative study of therapeutic paracentesis with and without intravenous albumin in cirrhosis », *Gastroenterology*, vol. 94, no 6, p. 1493-1502, juin 1988, doi: 10.1016/0016-5085(88)90691-9.
- [122] E. Solà et al., « Midodrine and albumin for prevention of complications in patients with cirrhosis awaiting liver transplantation. A randomized placebo-controlled trial », *J. Hepatol.*, vol. 69, no 6, p. 1250-1259, déc. 2018, doi: 10.1016/j.jhep.2018.08.006.
- [123] P. Caraceni et al., « Long-term albumin administration in decompensated cirrhosis (ANSWER): an open-label randomised trial », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 391, no 10138, p. 2417-2429, juin 2018, doi: 10.1016/S0140-6736(18)30840-7.
- [124] P. Caraceni, A. O'Brien, et P. Gines, « Long-term albumin treatment in patients with cirrhosis and ascites », *J. Hepatol.*, vol. 76, no 6, p. 1306-1317, juin 2022, doi: 10.1016/j.jhep.2022.03.005.
- [125] L. China et al., « A Randomized Trial of Albumin Infusions in Hospitalized Patients with Cirrhosis », *N. Engl. J. Med.*, vol. 384, no 9, p. 808-817, mars 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2022166.

- [126] J. Fernández et al., « Effects of Albumin Treatment on Systemic and Portal Hemodynamics and Systemic Inflammation in Patients With Decompensated Cirrhosis », *Gastroenterology*, vol. 157, no 1, p. 149-162, juill. 2019, doi: 10.1053/j.gastro.2019.03.021.
- [127] G. S. Leão, G. John Neto, R. de F. Jotz, A. A. de Mattos, et Â. Z. de Mattos, « Albumin for cirrhotic patients with extraperitoneal infections: A meta-analysis », *J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 34, no 12, p. 2071-2076, déc. 2019, doi: 10.1111/jgh.14791.
- [128] T. Thévenot et al., « Effect of albumin in cirrhotic patients with infection other than spontaneous bacterial peritonitis. A randomized trial », *J. Hepatol.*, vol. 62, no 4, p. 822-830, avr. 2015, doi: 10.1016/j.jhep.2014.11.017.
- [129] M. Guevara et al., « Albumin for bacterial infections other than spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. A randomized, controlled study », *J. Hepatol.*, vol. 57, no 4, p. 759-765, oct. 2012, doi: 10.1016/j.jhep.2012.06.013.
- [130] P. Carrier et al., « [Non-cirrhotic ascites: pathophysiology, diagnosis and etiology] », *Rev. Med. Interne*, vol. 35, no 6, p. 365-371, juin 2014, doi: 10.1016/j.revmed.2013.12.001.
- [131] R. Williams et al., « Addressing liver disease in the UK: a blueprint for attaining excellence in health care and reducing premature mortality from lifestyle issues of excess consumption of alcohol, obesity, and viral hepatitis », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 384, no 9958, p. 1953-1997, nov. 2014, doi: 10.1016/S0140-6736(14)61838-9.
- [132] O. Nabi, K. Lacombe, J. Boursier, P. Mathurin, M. Zins, et L. Serfaty, « Prevalence and Risk Factors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Advanced Fibrosis in General Population: the French Nationwide NASH-CO Study », *Gastroenterology*, vol. 159, no 2, p. 791-793.e2, août 2020, doi: 10.1053/j.gastro.2020.04.048.
- [133] J. Boursier, « J. Boursier "Faut-il dépister la fibrose hépatique en population générale ?" -<https://www.fmcgastro.org/texte-postu/postu-2021-paris/faut-il-depister-la-fibrose-hepatique-en-population-generale/> ».
- [134] P. Calès et al., « Evaluating the accuracy and increasing the reliable diagnosis rate of blood tests for liver fibrosis in chronic hepatitis C », *Liver Int.*, vol. 28, no 10, p. 1352-1362, nov. 2008, doi: 10.1111/j.1478-3231.2008.01789.x.
- [135] A. Vallet-Pichard et al., « FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest », *Hepatol. Baltim. Md.*, vol. 46, no 1, p. 32-36, juill. 2007, doi: 10.1002/hep.21669.
- [136] P. Angulo et al., « The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD », *Hepatol. Baltim. Md.*, vol. 45, no 4, p. 846-854, avr. 2007, doi: 10.1002/hep.21496.
- [137] A. J. Sanyal et al., « Enhanced diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis in individuals with NAFLD using FibroScan-based Agile scores », *J. Hepatol.*, vol. 78, no 2, p. 247-259, févr. 2023, doi: 10.1016/j.jhep.2022.10.034.
- [138] J. Boursier et al., « New sequential combinations of non-invasive fibrosis tests provide an accurate diagnosis of advanced fibrosis in NAFLD », *J. Hepatol.*, vol. 71, no 2, p. 389-396, août 2019, doi: 10.1016/j.jhep.2019.04.020.

- [139] V. W.-S. Wong et al., « Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease », *Hepatology*, vol. 51, no 2, p. 454-462, 2010, doi: 10.1002/hep.23312.
- [140] E. A. Tsochatzis, J. Bosch, et A. K. Burroughs, « Liver cirrhosis », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 383, no 9930, p. 1749-1761, mai 2014, doi: 10.1016/S0140-6736(14)60121-5.
- [141] E. Nguyen-Khac et al., « Non-invasive diagnosis of liver fibrosis in patients with alcohol-related liver disease by transient elastography: an individual patient data meta-analysis », *Lancet Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 3, no 9, p. 614-625, sept. 2018, doi: 10.1016/S2468-1253(18)30124-9.
- [142] Y. Peng, X. Qi, et X. Guo, « Child-Pugh Versus MELD Score for the Assessment of Prognosis in Liver Cirrhosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies », *Medicine (Baltimore)*, vol. 95, no 8, p. e2877, févr. 2016, doi: 10.1097/MD.0000000000002877.
- [143] J. J. Heidelbaugh et M. Bruderly, « Cirrhosis and Chronic Liver Failure: Part I. Diagnosis and Evaluation », *Am. Fam. Physician*, vol. 74, no 5, p. 756-762, sept. 2006.
- [144] J. H. Vazquez et M. R. McGill, « Redrawing the Map to Novel DILI Biomarkers in Circulation: Where Are We, Where Should We Go, and How Can We Get There? », *Livers*, vol. 1, no 4, Art. no 4, déc. 2021, doi: 10.3390/livers1040022.
- [145] « Biomolecular map of albumin identifies signatures of severity and early mortality in acute liver failure », *J. Hepatol.*, vol. 79, no 3, p. 677-691, sept. 2023, doi: 10.1016/j.jhep.2023.04.018.
- [146] F. Wong, « Drug insight: the role of albumin in the management of chronic liver disease », *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 4, no 1, p. 43-51, janv. 2007, doi: 10.1038/ncpgasthep0680.
- [147] J. A. Flemming, M. Djerboua, P. A. Groome, C. M. Booth, et N. A. Terrault, « NAFLD and Alcohol-Associated Liver Disease Will Be Responsible for Almost All New Diagnoses of Cirrhosis in Canada by 2040 », *Hepatology*, vol. 74, no 6, p. 3330, déc. 2021, doi: 10.1002/hep.32032.
- [148] C. D. Byrne et G. Targher, « NAFLD: A multisystem disease », *J. Hepatol.*, vol. 62, no 1, p. S47-S64, avr. 2015, doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.012.
- [149] R. Lakis, F.-L. Sauvage, E. Pinault, P. Marquet, F. Saint-Marcoux, et S. El Balkhi, « Semi-synthetic human albumin isoforms: Production, structure, binding capacities and influence on a routine laboratory test », *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 250, p. 126239, août 2023, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126239.

Serment d'Hippocrate

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Isoformes de l'albumine et évolution de la fibrose hépatique

Introduction.

L'évaluation de la fibrose hépatique est cruciale pour les patients atteints de maladies du foie. En cas de cirrhose décompensée, l'albumine humaine et les modifications post-transcriptionnelles. Le dépistage précoce des modifications aux différents stades de fibrose pourrait être un outil clinique.

Matériel et méthodes.

Dans cette étude prospective monocentrique, des patients atteints d'une maladie hépatique chronique à des stades différents de fibrose ont été inclus. Une méthode « maison » a permis l'évaluation des différentes isoformes de l'albumine.

Résultats.

Les 172 patients inclus ont été classés selon leur stade de fibrose : 36 F0/F1, 23 F2, 30 F3, 83 F4 dont 37 cirrhoses Child Pugh (CP) A, 26 CP B, 20 CP C. La concentration moyenne de l'albumine native était significativement plus faible chez les patients atteints de cirrhose CP B ou C que chez les F0/F1. La concentration moyenne d'albumine tronquée N-terminal (HSA-DA) était significativement réduite à chaque stade de fibrose par rapport au groupe control. La concentration moyenne de l'isoforme cystéinylée et doublement glycosylée (HSA-CYS-GLYSx2) était significativement plus élevée chez les patients cirrhotiques que dans le groupe control. La concentration moyenne d'albumine oxydée de façon réversible (HSA-CYS) augmente de façon significative, par rapport au groupe témoin, du stade de fibrose F0/F1 au stade cirrhose Child Pugh A. La concentration moyenne est significativement plus faible chez les patients avec une cirrhose décompensée que ceux avec une fibrose avancée (F3 et Child Pugh A). La concentration de l'isoforme cystéinylée irréversible a diminué de façon significative aux stades de cirrhose décompensée (HSA-SO3H). En standardisant la concentration moyenne de l'isoforme cystéinylée avec l'albumine native, nous avons observé une augmentation significative du ratio de concentration des isoformes chez les patients cirrhotiques décompensés. Aux stades antérieurs, celle-ci est similaire.

Conclusion.

Utilisées séparément les isoformes de l'albumine (HSA) ne sont pas suffisantes pour le diagnostic de la fibrose hépatique. Les isoformes HSA sont interdépendantes. Il est intéressant de plutôt réaliser une cartographie de ces isoformes.

Mots-clés : Fibrose hépatique, Modifications post-transcriptionnelles, isoformes de l'albumine, HSA

Albumin isoforms and the evolution of liver fibrosis

Introduction.

Hepatic fibrosis evaluation is a crucial point in patients with liver diseases. Human albumin and post-transcriptional modifications are impacted in case of decompensated cirrhosis. Early modifications screening in different fibrosis stages may be a possible clinical tool.

Material & methods.

We performed a prospective monocentric study, including patients with different states of chronic liver diseases. An "in house" method allowed to evaluate different albumin isoforms in each state.

Results.

172 patients were classified according to their fibrosis stage: 36 F0/F1, 23 F2, 30 F3, 83 F4 including 37 cirrhosis Child Pugh (CP) A, 26 CP B, 20 CP C. The average concentration of native albumin was significantly lower in patients with cirrhosis CP B or C than in F0/F1. Group.N-terminal truncated albumin (HSA-DA) average concentration was significantly reduced in each stages of fibrosis compared with the control group. The average concentration



of cysteinylated and double glycosylated isoform (HSA-CYS-GLYCx2) was significantly greater in cirrhosis stages than in controls. The average concentration of reversibly oxidized albumin (HAS-CYS) increases significantly, compared with the control group, from fibrosis stage F0 to CPA. The average concentration was significantly lower in decompensated cirrhosis than in advanced fibrosis (F3 and Child Pugh A). The concentration of the irreversible cysteinylated isoform decreased significantly at the stages of decompensated cirrhosis. By standardizing the average concentration of cysteinylated isoform to native albumin, we then observed a significant increase of the ratio of isoform's concentration in decompensated cirrhotic patients whereas the concentration in earlier stages was similar.

Conclusion.

HSA isoforms used separately for the diagnosis of liver fibrosis is not sufficient since HSA isoforms are interdependent and that HSA isoforms should be considered as a network and exploited through a mapping approach of these isoforms.

Keywords: Hepatic fibrosis, post-transcriptional modifications, HSA isoforms

