

NASH/NAFLD e insulino-resistenza

Amalia Gastaldelli¹, Fabio Marra², Giulio Marchesini³

¹Unità di Metabolismo, Istituto di Fisiologia Clinica del CNR, Pisa, ²Dipartimento di Medicina Interna e Centro di Ricerca, Trasferimento ed alta Formazione DenoTHE, Università di Firenze, ³SSD di Dietetica Clinica, "Alma Mater Studiorum" Università di Bologna

La steatosi epatica non-alcolica (*non-alcoholic fatty liver disease*, NAFLD) è la più comune forma di malattia epatica cronica dei paesi occidentali. Comprende una serie di alterazioni epatiche - che vanno dalla semplice steatosi, alla steatoepatite non-alcolica (*non-alcoholic steatohepatitis*, NASH), alla cirrosi e all'epatocarcinoma - spesso associate a obesità viscerale, insulino-resistenza (IR), ipertensione e dislipidemia. Proprio la frequenza di queste associazioni e il quasi obbligato rapporto con l'IR ha condotto a considerare la NAFLD l'espressione epatica della sindrome metabolica (SM) con la quale condivide eziologia, prognosi e trattamento (1).

Varie ipotesi sono state proposte per spiegare lo sviluppo e la progressione della NAFLD agli stadi avanzati di NASH, cirrosi ed epatocarcinoma. Mentre la steatosi semplice è una condizione benigna, la NASH si caratterizza per la presenza di infiammazione, fibrosi e danno cellulare che possono portare alla malattia epatica all'ultimo stadio. Secondo l'ipotesi dei *two hits*, proposta da Day et al. (2), il primo insulto consisterebbe nell'accumulo epatico di trigliceridi (TG), legato all'IR, cui farebbe seguito un secondo insulto responsabile della progressione della malattia da steatosi pura a NASH e fibrosi. In realtà, anche se fattori di stress ossidativo, alterazioni delle adipochine/citochine e altre condizioni favorevoli sono stati implicati nel meccanismo di danno epatico, ad oggi i meccanismi precisi non sono ancora stati identificati e le condizioni che promuovono la steatosi rimangono quelle più spesso associate alla evoluzione del danno. Così, la progressione della NAFLD dipende essa stessa dalla presenza di obesità, IR e diabete che restano le condizioni cliniche nelle quali maggiore è la probabilità di progressione. Tuttavia, così come non tutti i soggetti obesi, insulino-resistenti e/o portatori di SM sviluppano steatosi, così

non tutti i soggetti con steatosi epatica sviluppano NASH o cirrosi (3) e la definizione di criteri di rischio rimane probabilmente il problema più spinoso in termini prognostici.

Prevalenza

La diagnosi di NAFLD è generalmente fatta a seguito dell'occasionale riscontro di enzimi epatici alterati, la cui prevalenza dipende da molteplici fattori (4) che comprendono anche influenze razziali. Gli ispanici presentano una più alta prevalenza di NAFLD rispetto ai bianchi, mentre gli afro-americani hanno una prevalenza significativamente inferiore rispetto ai bianchi (5). Mentre la maggiore prevalenza negli ispanici è positivamente correlata con l'obesità e l'IR, nei soggetti di colore non vi è alcuna correlazione con obesità e IR, anche dopo correzione per possibili differenze di assunzione di alcol. Inizialmente la malattia sembrava essere più frequente nel sesso femminile ma gli studi più recenti documentano una maggiore prevalenza nei maschi.

La difficoltà e la grande variabilità nella stima della reale prevalenza della NAFLD/NASH nella popolazione generale dipendono anche dalle tecniche di misurazione che vengono impiegate (Tabella 1). Per convenzione, si definisce patologico un accumulo intraepatico di TG superiore al 5%, indipendentemente dai valori degli enzimi epatici. Il *Dallas Heart Study* ha infatti evidenziato che in soggetti normopeso, non diabetici e con normali enzimi epatici il 95° percentile del valore dei TG intraepatici, misurati con la spettroscopia di risonanza magnetica, corrisponde a 5,5% (4). Tra le metodiche di immagine, l'ecografia epatica risulta comunque quella maggiormente impiegata nella diagnosi, sia in presenza, sia in assenza di enzimi alterati, seppur con una sensi-

Tabella 1 Prevalenza della NAFLD nella popolazione, in rapporto alle varie metodiche utilizzate per individuarla

Procedura di screening	Prevalenza NAFLD
Alterazione degli enzimi epatici	
- Popolazione generale (dati NHANES)	28%
- Soggetti obesi (dati QUOVADIS)	21%
- Soggetti con DMT2	16–23%
Biopsia epatica	15–39%
Dati autoptici	16–24%
Ecografia	
- Popolazione generale	16–35%
- Obesi (studio Dioniso)	76%
Tomografia computerizzata	10%
Spettroscopia di risonanza magnetica	24–45%

I dati sono desunti dalla letteratura citata

bilità modesta e con un significato semiquantitativo (6). Metodiche più sofisticate (TC addominale, risonanza magnetica e spettroscopia di risonanza magnetica) risultano molto più precise e quantitative ma non vengono generalmente usate per studi epidemiologici. Non esiste poi una chiara correlazione tra le alterazioni enzimatiche e l'entità della steatosi, nemmeno quando questa venga rilevata alla biopsia epatica. Quest'ultima rimane dunque la metodica diagnostica di elezione in quanto fornisce dati anche sulla presenza e severità di necroinfiammazione e fibrosi ma, dal momento che non viene usualmente eseguita in soggetti senza alterazioni delle transaminasi, la vera prevalenza e distribuzione della NAFLD è sottostimata. Si ritiene che la prevalenza di NAFLD si aggiri intorno al 10–24% nella popolazione generale, che arrivi al 57–90% nei soggetti obesi e oltre il 75% nei diabetici. La prevalenza della NAFLD cresce all'aumentare dei fattori di rischio associati (obesità, diabete mellito) (7). Oltre il 90% dei pazienti con NAFLD presenta almeno un fattore della SM, mentre da un terzo alla metà dei pazienti soddisfa 3 criteri della SM, nonostante un'età relativamente giovane. I soggetti diabetici sono a più alto rischio di sviluppo di NAFLD/NASH e diversi studi hanno evidenziato che nel diabete tipo 2 (DMT2) si ha un accumulo di TG epatici superiore al 5% indipendentemente dall'età e dall'indice di massa corporea (BMI) (8).

Eziopatogenesi

Il meccanismo responsabile dell'accumulo di TG intraepatici non è chiaro e poche informazioni sono disponibili sullo sviluppo temporale della steatosi epatica. Modelli animali suggeriscono come il fegato possa accumulare lipidi nel giro di qualche settimana e anche solo di qualche giorno.

Tra i fattori di rischio per lo sviluppo della NAFLD spiccano obesità e diabete (due condizioni fortemente associate alla presenza di insulino-resistenza) dieta ad elevato apporto calorico e contenuto di grassi e sedentarietà. È stata evidenziata una correlazione positiva tra BMI e accumulo di TG intraepatici (8), ma il diabete è una condizione di rischio per la NAFLD indipendente dall'obesità e i soggetti diabetici accumulano maggiormente grasso viscerale e TG epatici a parità di BMI (8).

I TG epatici possono derivare da un aumentato afflusso di acidi grassi liberi (FFA) e/o da una ridotta ossidazione epatica e/o da una diminuita sintesi o secrezione di *very low-density lipoproteins* (VLDL). Il flusso di FFA al fegato è considerato il meccanismo principale; può essere dovuto a un aumentato rilascio di FFA da parte degli adipociti, a un eccesso di lipidi nella dieta o a un'incrementata sintesi endogena di FFA nel fegato (*de novo* lipogenesi, DNL) (9). Quest'ultimo fattore risulta particolarmente rilevante nella NAFLD; la sintesi *ex novo* di lipidi è responsabile almeno del 25% del totale dei TG epatici (9) – contro un 8–10% in assenza di steatosi – e costituisce quindi un target terapeutico importante per ridurre la steatosi epatica (10).

È stato ipotizzato che l'accumulo di grasso viscerale possa essere *per se* un fattore di rischio indipendente nella NAFLD. Infatti, il tessuto adiposo viscerale è altamente lipolitico, rilascia FFA e adipocitochine direttamente in vena porta, è associato a IR periferica ed epatica (8) e infine si ritrova frequentemente nella NAFLD anche in assenza di obesità e sindrome metabolica (11). Il contributo di questo tessuto in termini di FFA totali rimane però quantitativamente modesto (12), nonostante l'alto *turnover*, dal momento che non supera il 10% della massa grassa totale. Quindi, nonostante il tessuto adiposo viscerale sia associato a IR muscolare, potrebbe essere direttamente implicato solo nella IR epatica per il suo rilasciare FFA direttamente nella vena porta.

L'accumulo di TG epatici non sembra invece dovuto a un difetto nel metabolismo lipidico epatico. La sintesi di TG e la secrezione di VLDL non sono ridotte ma

semmai incrementate nei pazienti con NAFLD (13) e l'ossidazione lipidica è aumentata sia a livello epatico, sia sistemico (11).

La presenza di NAFLD si può perciò spiegare non come un difetto intrinseco dell'epatocita, ma come un'incapacità del fegato di "smaltire" l'eccesso di TG prodotti dalla riesterificazione degli FFA circolanti e di quelli prodotti per DNL. Quando la capacità di immagazzinare lipidi nel tessuto adiposo è superata, il grasso si deposita nel fegato e nei muscoli dove il metabolismo dei TG interferisce con i segnali insulinici, il trasporto/fosforilazione del glucosio e con la sintesi di glucosio nel muscolo e la gluconeogenesi (GNG) nel fegato (8), determinando una condizione di lipotossicità. Inoltre, il tessuto adiposo viscerale rilascia adipocitochine associate allo sviluppo della NASH (14).

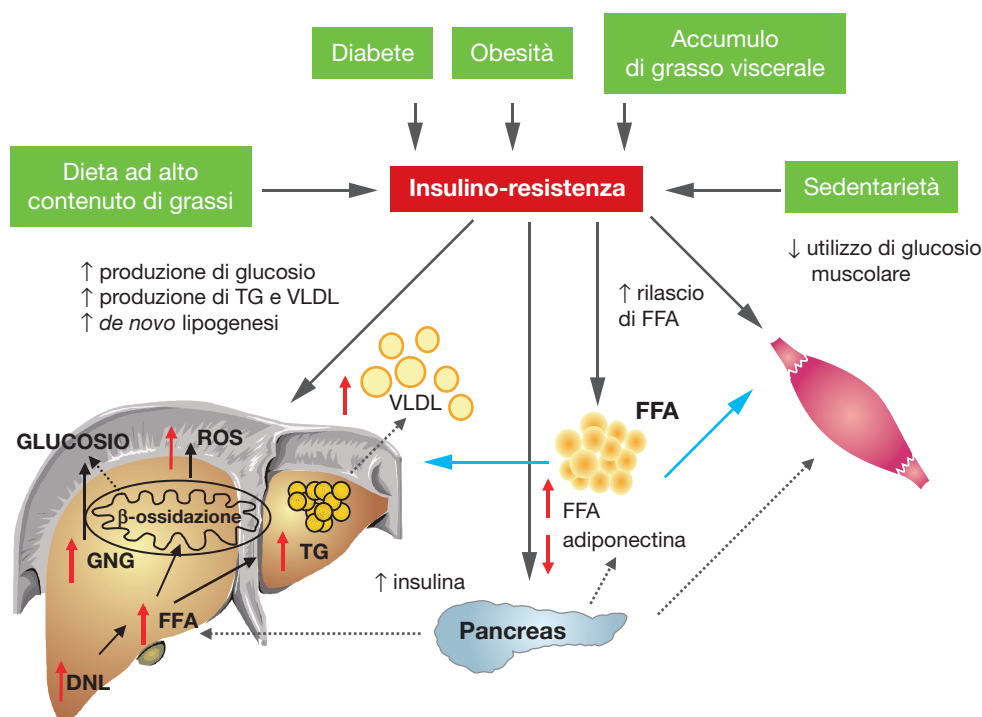
Il ruolo dell'IR rimane fondamentale nella patogenesi delle alterazioni metaboliche (Figura 1). Nella NAFLD l'IR è dimostrabile a livello di: a) fegato, con diminuita soppressione della produzione epatica di glucosio durante stimolo insulinico, b) muscolo, come ridotto utilizzo del glucosio e c) tessuto adiposo, come

aumentata lipolisi ed elevate concentrazioni di FFA nonostante alti livelli di insulina.

NAFLD e insulino-resistenza epatica. Mentre in condizioni basali la produzione epatica di glucosio appare largamente associata ai livelli glicemici circolanti - ed è normale in soggetti NAFLD normoglicemici, in risposta all'iperinsulinemia del *clamp*, anche a basse dosi di insulina - viene a mancare nella NAFLD la soppressione della produzione epatica di glucosio (11, 15, 16). Il difetto appare proporzionale all'accumulo di grasso viscerale, alla concentrazione degli FFA circolanti (8) e a quella di insulina che aumenta in risposta al grado di insulino-resistenza. Non è ancora chiaro se la steatosi sia la causa o la conseguenza dell'insulino-resistenza che si osserva in questi pazienti. Infatti, se il flusso di FFA (elevato anche in conseguenza dell'IR) genera steatosi epatica, è anche vero che la steatosi promuove la produzione epatica di citochine che a loro volta aumentano l'IR. Si genera così un circolo vizioso che contribuisce a mantenere e ad aggravare la patologia epatica e sistemica.

NAFLD e insulino-resistenza muscolare. È questa la

Figura 1 L'insulino-resistenza come momento centrale tra fattori di rischio per NAFLD e accumulo intraepatico di trigliceridi



caratteristica più largamente studiata nella NAFLD. Già nel 1999 venne segnalata una significativa alterazione del consumo di glucosio in soggetti NAFLD esaminati mediante la tecnica del *glucose clamp* euglicemico. Gli studi sono stati successivamente approfonditi con l'uso di traccianti e hanno confermato una significativa riduzione della sensibilità periferica e sistemica all'insulina per quanto riguarda il metabolismo del glucosio (15, 16). Il difetto appare simile qualitativamente e quantitativamente a quanto osservabile in presenza di DMT2, ma è presente anche in soggetti con normale glicemia a digiuno, così come in soggetti normopeso con NAFLD (11). L'IR periferica e muscolare appare progressivamente più severa passando dalla condizione di normopeso a quella di sovrappeso e ulteriormente si aggrava in presenza di diabete. Esiste anche un rapporto tra IR e severità della malattia epatica (16).

NAFLD e insulino-resistenza del tessuto adiposo. Consensualmente all'IR sul metabolismo del glucosio, si assiste a una ridotta attività dell'insulina nel tessuto adiposo. Paragonati ai soggetti di controllo, i pazienti con NASH hanno aumentati livelli plasmatici di FFA a digiuno, durante *oral glucose tolerance test* (OGTT), per una mancata soppressione della lipolisi da parte dell'insulina, sia a bassi sia ad alti livelli di insulina circolante (16). Risultati analoghi si ottengono in risposta a un carico orale di glucosio. Durante il *clamp* l'azione regolatoria dell'insulina sulla lipolisi viene a mancare anche in soggetti non diabetici e non obesi (11), a conferma che il difetto risulta essere primariamente legato alla presenza di steatosi. L'aumentata lipolisi si associa a un incremento dell'ossidazione lipidica, espresso anche dagli elevati livelli di β -idrossibutirrato (11), e a un'aumentata sintesi di VLDL-TG e Apo-B, in stretta correlazione con l'entità dei TG epatici (13).

L'insulino-resistenza nei pazienti con NAFLD è una caratteristica primaria indipendente dalla presenza di obesità e/o diabete (11). L'accumulo di grasso ectopico non è presente solo a livello addominale (fegato e tessuto adiposo viscerale), ma anche a livello intramiocellulare (17), nell'epicardio, nel miocardio e nel mediastino (18, 19). Tutto questo si traduce probabilmente in un ulteriore aumento del rischio cardiovascolare, già elevato per la presenza di dislipidemia aterogena. Nei pazienti obesi con NAFLD la steatosi miocardica si associa anche a un aumento del rischio cardiovascolare, dipendente dalla presenza di una disfunzione endoteliale (20).

Recentemente, diversi studi hanno evidenziato

un'associazione tra NAFLD e aumento dello spessore intima-media (*intima media thickness*, IMT) (21, 22), marker di aterosclerosi generalizzata. L'IMT carotidea è maggiore nei soggetti con NASH rispetto a quelli con steatosi semplice e la severità dell'istopatologia epatica nei pazienti NAFLD è fortemente associata a forme precoci di aterosclerosi carotidea, indipendente dai fattori di rischio classici, dall'IR e dalla SM (23). Possibili meccanismi aterogeni che legano la NAFLD all'IMT possono essere rappresentati da: a) aumento dello stress ossidativo e dell'infiammazione subclinica, fattori coinvolti nella progressione da NAFLD a NASH (3, 24) e nello sviluppo di disfunzioni endoteliali (25); b) ridotti livelli plasmatici di adiponectina, citochina secreta dal tessuto adiposo avente proprietà antiaterogene (26); c) presenza di un alterato metabolismo delle lipoproteine (27), con conseguente alterazione nella formazione di VLDL e nell'esportazione dei lipidi epatici e secondario aumento plasmatico di *remnants* ricchi di TG e colesterolo aterogeni (13).

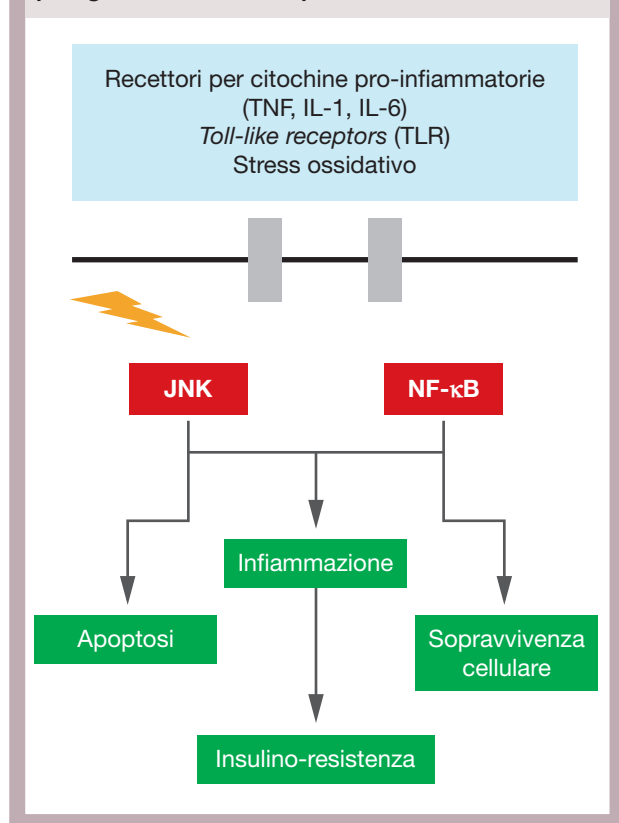
Meccanismi di danno epatico

Lipotossicità

Come già accennato, l'aumentata ossidazione degli FFA e/o l'alterata sintesi o secrezione delle VLDL sono i punti centrali per lo sviluppo della steatosi epatica. L'accumulo epatocitario di TG potrebbe non essere il meccanismo primario del danno epatico, ma soltanto la causa della steatosi, potenzialmente senza effetti dannosi. In un modello sperimentale di steatosi indotta da una dieta iperlipidica il trattamento con un oligonucleotide antisense, in grado di inibire la sintesi di TG, riduce la steatosi ma produce un aumento del danno epatico, espresso da elevati valori di transaminasi e aumento dell'apoptosi (28). Tutto questo si associa a elevati livelli di FFA intraepatici. Sulla base di questi dati, gli autori ipotizzano che la sintesi di TG sia quindi un meccanismo favorevole in grado di compartimentalizzare l'eccesso di FFA e impedire la lipotossicità.

La lipotossicità promuove l'apoptosi, la necrosi, lo stress ossidativo e l'infiammazione (14). Il meccanismo patogenetico è verosimilmente legato al sistema NF- κ B e a IKK-2, il cui blocco previene il danno epatocitario indotto dalla dieta iperlipidica (29). Da notare che JNK e NF- κ B, due vie proinfiammatorie che contribuiscono a determinare insulino-resistenza, hanno effetti opposti sulla sopravvivenza cellulare (Figura 2) e pertanto

Figura 2 Effetti dell'attivazione di JNK e NF- κ B nella patogenesi del danno epatico



diversi possono essere gli effetti secondari di farmaci che ne inibiscono le azioni (14).

Adipochine e citochine

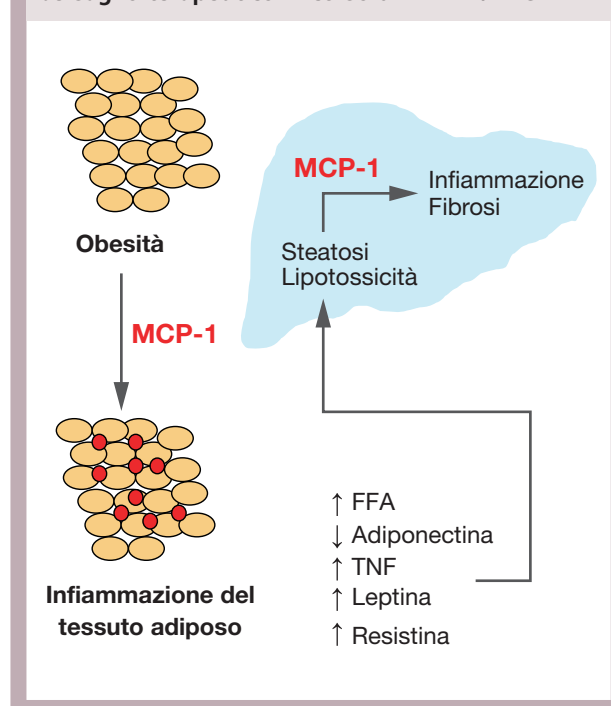
Altri meccanismi possono entrare in gioco, particolarmente alterazioni delle citochine e adipochine circolanti. L'eccessiva presenza di grasso viscerale si associa a una diminuzione della concentrazione plasmatica di citochine insulino-sensibilizzanti e anti-infiammatorie e a un'aumentata espressione di molecole che, al contrario, promuovono l'infiammazione. L'IR, a sua volta, si associa all'infiammazione del tessuto adiposo che modifica ulteriormente la secrezione di diverse citochine, tra cui la chemochina MCP (*monocyte chemoattractant protein*)-1. Poiché questa adipochina risulta iperespressa nei topi obesi, si potrebbe ipotizzare che questa anomalia sia presente anche nei soggetti obesi. Recenti evidenze mostrano come MCP-1 sia coinvolta nella generazione dell'infiammazione a livello del tessuto adiposo, attraverso l'aumentato reclutamento di macrofagi, con conseguente comparsa di fegato grasso

e di IR (30). MCP-1 è inoltre coinvolta nei processi di amplificazione del danno e fibrogenesi a livello epatico (Figura 3) (31).

Bassi livelli di adiponectina circolante (32) si associano a un aumentato accumulo di TG nel fegato e allo sviluppo di infiammazione. Poiché l'adiponectina - oltre a stimolare il metabolismo glucidico e lipidico - inibisce l'espressione di diverse citochine proinfiammatorie, incluso il *tumor necrosis factor* (TNF)- α , un suo deficit si traduce in un'iperespressione di questi fattori infiammatori che contribuiscono all'attivazione di quei processi che portano alla progressione della steatosi verso l'infiammazione e la fibrosi. Il TNF- α promuove la lipolisi, incrementa il flusso di FFA e, insieme all'interleuchina (IL)-6, è responsabile della disfunzione mitocondriale.

Anche la leptina è coinvolta nello sviluppo della steatosi epatica, sia attraverso meccanismi che regolano il metabolismo e la distribuzione del grasso a livello epatico (33), sia attraverso la modulazione dei processi ossidativi all'interno del fegato (34). Sembra che nei soggetti NAFLD obesi vi sia una resistenza alla leptina, non correlata all'IR (33), che promuove l'accumulo di grasso e che favorisce il processo infiammatorio (35).

Figura 3 La chemochina MCP-1 come possibile bersaglio terapeutico in corso di NAFLD/NASH



Alterazioni mitocondriali e stress ossidativo

Una volta accumulatosi il grasso a livello parenchimale, alterazioni metaboliche e mitocondriali e stress ossidativo intervengono nel determinare quel danno cellulare e quelle alterazioni genetiche che portano all'apoptosi cellulare e che contribuiscono all'inizio del processo infiammatorio (36). Le alterazioni mitocondriali, sia funzionali sia morfologiche, sono la conseguenza dell'IR e della lipotossicità e portano a β -ossidazione degli FFA e alla aumentata formazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS). La presenza di citochine infiammatorie, come il TNF- α , contribuisce ad incrementare il danno mitocondriale, attraverso la produzione di specie reattive dell'azoto (RNS) e di anione superossido. ROS e RNS inducono alterazioni chimiche biomolecolari che comportano la morte cellulare o l'instaurarsi di risposte di adattamento, come ad esempio l'attivazione di fattori di trascrizione redox-sensibili (NF- κ B) (37), che contribuiscono alla produzione di mediatori proinfiammatori e fibrogenici da parte delle cellule di Kupffer e delle cellule stellate epatiche. Recentemente è stata dimostrata una correlazione tra l'alterata produzione di ROS e l'IR (38).

Nonostante la forte capacità antiossidante del fegato, gli epatociti soffrono per l'effetto citotossico conseguente allo stress ossidativo e vanno incontro a necrosi e apoptosi che scatenano processi infiammatori (39, 40).

Tutte queste alterazioni inducono il processo fibrogenetico epatico che in alcuni pazienti giunge a determinare il quadro della cirrosi e delle sue complicanze. I meccanismi molecolari di fibrogenesi in corso di NASH (14) sono oggetto di attiva ricerca 'traslazionale' e sono riassunti in **Tabella 2**. Di recente individuazione è il ruolo profibrogenico svolto da alcune adipochine e in particolare dalla leptina (35) - attraverso la modulazione della biologia delle cellule stellate epatiche, gli elementi cellulari che regolano l'accumulo di matrice in corso di fibrogenesi (**Figura 4**).

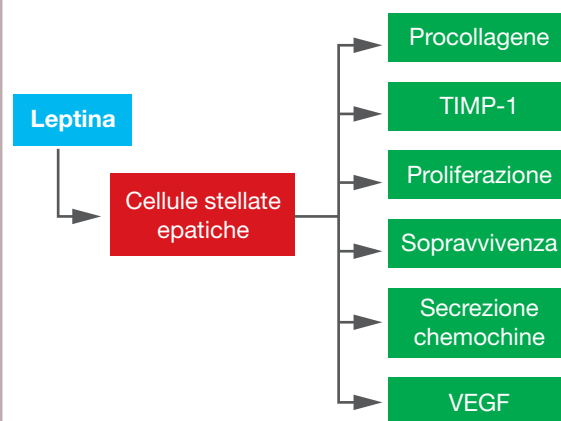
Disfunzione linfocitaria

Il danno degli epatociti, l'infiammazione e la fibrosi caratterizzano la progressione della semplice steatosi a steatoepatite. Tra i vari componenti dell'infiltrato infiammatorio, oltre ai monociti, i neutrofili rappresentano un'importante sorgente di molecole correlate allo stress ossidativo (41). Nella NASH l'infiammazione è il risultato dell'azione di mediatori solubili bioattivi che agiscono sia sulle cellule parenchimali sia su quelle non parenchimali. Le cellule epatiche sono inoltre il

Tabella 2 Possibili meccanismi di fibrogenesi nella NAFLD

1. Infiammazione
2. Stress ossidativo
3. Iperinsulinemia
4. Apoptosi epatocitaria
5. Attivazione del recettore CB1
6. Ridotta attivazione di PPAR- γ
7. Alterazione del pattern adipochinico
8. Attivazione di TLR-4
9. Attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone

Figura 4 Gli effetti profibrogenici della leptina si esplicano attraverso la modulazione di varie azioni biologiche delle cellule stellate epatiche



TIMP-1 = tissue inhibitor of metalloproteinase-1; VEGF = vascular endothelial growth factor

bersaglio di fattori generati dal tessuto adiposo, soprattutto quando questo è infiltrato da cellule infiammatorie, come nell'obesità. Un recente studio (42) ha evidenziato come uno dei meccanismi implicati nello sviluppo di infiammazione sia correlato a una disfunzione linfocitaria obesità-mediata che porta ad una anormale sensibilizzazione agli agenti chemiotattici. Sebbene il meccanismo non sia ancora del tutto chiarito, la presenza di obesità potrebbe stimolare il reclutamento di linfociti B all'interno del parenchima epatico, con conseguente attivazione del processo infiammatorio. I linfociti B, attraverso la produzione di citochine, gioca-

no un ruolo fondamentale nell'avvio del processo fibrotico (43). L'attivazione delle cellule di Kupffer e delle cellule stellate epatiche contribuisce ulteriormente all'espressione delle citochine nella NASH (44). Un ruolo importante nella progressione della malattia è da attribuire anche alle cellule endoteliali sinusoidali che, tramite l'espressione di molecole di adesione, interagiscono con i leucociti circolanti.

Il danno epatocitario e lo stress ossidativo rappresentano i fattori iniziali per lo sviluppo dell'infiammazione; secondariamente, fattori aggiuntivi, tra cui lo stress del reticolo endoplasmatico, contribuiscono alla generazione di segnali infiammatori e di IR (45) e all'immissione in circolo di leucociti. Anche in questo caso, l'attivazione del sistema NF- κ B, fattore nucleare che contribuisce alla formazione di fattori proinfiammatori e fibrogenici da parte delle cellule stellate epatiche e dalle cellule di Kupffer, gioca un ruolo cruciale per l'infiammazione, nonostante sia coinvolto anche nel processo di sopravvivenza cellulare (37). Nei pazienti con NASH NF- κ B è iperattivo (46) e questo è sufficiente per innescare l'infiammazione e la steatosi (44). Alcuni studi mostrano come l'impiego di farmaci antinfiammatori non steroidei che interferiscono sul sistema NF- κ B sia in grado di ridurre l'infiammazione a livello epatico e la progressione verso la NASH.

Implicazioni per il trattamento (tra attendismo e aggressività)

Vari punti critici rendono difficile una decisione terapeutica nella NAFLD. L'alta prevalenza della condizione, la lunga storia asintomatica - frequentemente in soggetti apparentemente sani (se si esclude la presenza di sovrappeso/obesità) - lo stress per il paziente legato al riconoscimento di elevati valori di transaminasi e le scarse conoscenze in termini di storia naturale sono tutti fattori che vanno considerati nel programmare accertamenti diagnostici invasivi e interventi terapeutici. Vediamo di considerare brevemente i problemi principali che si pongono per il medico nella decisione terapeutica.

Significato clinico delle transaminasi

Livelli di transaminasi superiori al *cut-off* di normalità si osservano nella popolazione italiana in circa il 20% sia dei soggetti obesi, sia dei soggetti con diabete tipo 2 (47, 48). Peraltro, i valori "normali" andrebbero rivi-

sti (49) e l'uso di criteri più restrittivi di normalità dilata il numero di soggetti NAFLD etichettati come patologici. In presenza di obesità la prevalenza di ipertransaminasemia aumenta con la classe di obesità (48), mentre nel diabete esiste un rapporto tra prevalenza di ipertransaminasemia, BMI e grado di scompenso metabolico (valori di HbA_{1c}) (47). Il significato clinico delle transaminasi rimane comunque modesto.

L'ipertransaminasemia rimane la causa più frequente di invio per visita specialistica epatologica dei soggetti NAFLD, pur con limiti di sensibilità e specificità nella predizione di danno epatico avanzato. Vari studi hanno documentato che transaminasi "normali" possono essere presenti pure in casi con NASH (50, 51), anche se esiste un qualche rapporto tra livelli di transaminasi e severità di danno epatico (50).

Biopsia epatica

La biopsia epatica rimane oggi l'unico esame diagnostico in grado di definire completamente la severità della malattia e la sua potenziale progressione, permettendo di valutare il grado di necroinfiammazione e la fibrosi.

La tecnica di controllo ultrasonografico applicata universalmente alla biopsia la rende relativamente sicura (complicanze globali 0,75%; ospedalizzazione 0,51%; sanguinamento 0,35%) e la mortalità, in una ampia serie, è esclusivamente legata a biopsie su epatocarcinoma (52), ma rimane scarsamente accettata dai pazienti e anche dai medici al di fuori dei reparti epatologici. L'altissimo numero di pazienti candidati rende comunque indispensabile una selezione, anche se un'analisi decisionale ne ha riaffermato il vantaggio in termini di prospettive cliniche nella NAFLD (53). La selezione è generalmente basata sulla presenza di ipertransaminasemia persistente (con i limiti descritti sopra) e su criteri clinici e diagnostici non invasivi.

Altri criteri di progressione del danno

Vari algoritmi sono stati proposti per predire in modo non invasivo la progressione della patologia epatica. Nessuno ha tuttavia raggiunto una sufficiente sensibilità e specificità per essere proposto come alternativa alla biopsia (54-56). Tra i dati clinici, proprio la presenza di DMT2 e obesità risulta essere maggiormente associata alla fibrosi severa, alla NASH e alla sua progressione a cirrosi e carcinoma epatocellulare (57) (Tabella 3), condizionando un aumento di mortalità per malattia epatica, osservato anche nella popolazione italiana con DMT2 (58). Tra gli altri criteri di progres-

Tabella 3 Fattori associati alla presenza di fibrosi avanzata e alla progressione del danno epatico (studi prospettici) nella NAFLD

Predittori di fibrosi avanzata	Studi retrospettivi	Studi prospettici
Obesità/BMI/ Aumento di peso	7	3
Diabete/iperglicemia	5	2
Iperinsulinemia/ Insulino-resistenza	7	2
Insulino-resistenza/ Sindrome metabolica	3	-
Età	3	1
Ipertrigliceridemia	2	-
Sesso maschile	1	-
Sesso femminile	1	-
Elevati valori di transaminasi	7	1

I dati sono derivati da un'analisi di 17 studi retrospettivi e 5 studi prospettici

sione proprio la presenza di IR (valutazione HOMA, *homeostasis model assessment*) è stata associata a una fibrosi avanzata in molteplici studi (57).

Opzioni terapeutiche

Da ultimo, anche la scarsità di valide e durature opzioni terapeutiche finisce per essere un limite all'impegno diagnostico (Tabella 4). La steatosi è sensibilissima alla dieta; anche due sole settimane di dieta fortemente ipocalorica e ipoglicidica portano alla risoluzione quasi totale dell'accumulo di TG (59), ma gli effetti su necroinfiammazione e fibrosi sono incerti. Nonostante molti farmaci siano stati testati, la loro efficacia nel lungo periodo rimane non dimostrata. A studi pilota positivi fanno riscontro studi randomizzati nella maggior parte dei casi negativi, almeno su obiettivi terapeutici significativi (60). La terapia con farmaci insulino-sensibilizzanti rimane quella di elezione, ma molti pazienti con DMT2 sono già trattati con questi farmaci. Sia la metformina (61), sia i glitazoni (56, 62-64) si sono dimostrati utili nel ridurre la steatosi, ma anche l'infiammazione e la fibrosi migliorano durante il trattamento. Tuttavia, alla sospensione si assiste general-

mente a una ripresa del danno epatico e studi di follow-up a lungo termine documentano anche un ritorno del quadro istologico alle condizioni di pre-trattamento (65). Si pone quindi il problema di un trattamento continuativo o di una terapia che possa garantire una risoluzione dei processi coinvolti nella patogenesi del danno.

Nel concetto che vede la NAFLD come espressione epatica della sindrome metabolica, un intervento sistematico sullo stile di vita appare l'unico in grado di rimuovere contemporaneamente tutti i fattori coinvolti. Interventi basati su protocolli di terapia cognitivo-comportamentale sono stati utilizzati nella NAFLD con successo - valutato anche istologicamente a un anno (66) - mentre interventi di *counseling* di popolazione

Tabella 4 Opzioni terapeutiche sperimentate nella NAFLD

- Interventi sullo stile di vita
 - Dieta prescrittiva
 - Counseling nutrizionale e per attività fisica
 - Terapia cognitivo-comportamentale
- Farmaci insulino-sensibilizzanti
 - Metformina
 - Glitazoni
- Farmaci antiobesità
 - Sibutramina
 - Orlistat
- Citoprotettori, vitaminici e antiossidanti
 - Acido ursodesossicolico
 - Vitamina E
 - Vitamina C
 - Betaina
 - N-acetil-cisteina
- Farmaci ipolipemizzanti
 - Gemfibrozil
 - Statine
 - Omega-3
- Altri farmaci
 - Losartan
 - Anti-TNF (pentossifillina)
 - Inibitori dell'apoptosi (inibitori delle caspasi)

hanno dimostrato efficacia sulla normalizzazione delle transaminasi in soggetti che perdono peso e si impegnano per una maggiore attività fisica (67).

Conclusioni

Per molto tempo la malattia epatica a origine metabolica è stata sottovalutata come condizione di scarsa rilevanza clinica. Solo oggi si sta prendendo coscienza dell'importanza della patologia, in termini epidemiologici e clinici, anche in rapporto all'epidemia di obesità e diabete del mondo occidentale. L'importanza della NAFLD rimane comunque sottovalutata, se si considera come la presenza di una patologia epatica complichino spesso anche le malattie epatiche di altra eziologia (virus B e C, emocromatosi, malattie autoimmuni e alcoliche), peggiorandone significativamente la prognosi e riducendo le prospettive terapeutiche. Vi è l'esigenza di trasferire percorsi strutturati di terapia cognitivo-comportamentale, specifici per il diabete e l'obesità, verso il trattamento multidisciplinare dei soggetti NAFLD (68). Vi è l'esigenza di attivare protocolli di sorveglianza epatologica in soggetti con NAFLD evoluta a fibrosi avanzata, per ridurre il rischio di giungere troppo tardivamente alla diagnosi delle complicanze più severe della malattia.

Bibliografia

1. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 37: 917-923, 2003.
2. Day CP, James OFW. Steatohepatitis: A tale of two "hits". *Gastroenterology* 114: 842-845, 1998.
3. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 346: 1221-1231, 2002.
4. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology* 40: 1387-1395, 2004.
5. Browning JD, Kumar KS, Saboorian MH, Thiele DL. Ethnic differences in the prevalence of cryptogenic cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 99: 292-298, 2004.
6. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 123: 745-750, 2002.
7. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: From steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 43: S99-S112, 2006.
8. Gastaldelli A, Cusi K, Pettiti M, et al. Relationship between hepatic/visceral fat and hepatic insulin resistance in nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Gastroenterology* 133: 496-506, 2007.
9. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 115: 1343-1351, 2005.
10. Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: Lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* 118: 829-838, 2008.
11. Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, et al. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: Sites and mechanisms. *Diabetologia* 48: 634-642, 2005.
12. Nielsen S, Guo Z, Johnson CM, et al. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest* 113: 1582-1588, 2004.
13. Fabbrini E, Mohammed BS, Magkos F, et al. Alterations in adipose tissue and hepatic lipid kinetics in obese men and women with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 134: 424-431, 2008.
14. Marra F, Gastaldelli A, Svegliati Baroni G, et al. Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Trends Mol Med* 14: 72-81, 2008.
15. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: A feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 50: 1844-1850, 2001.
16. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 120: 1183-1192, 2001.
17. Hwang JH, Stein DT, Barzilai N, et al. Increased intrahepatic triglyceride is associated with peripheral insulin resistance: In vivo MR imaging and spectroscopy studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293: E1663-E1669, 2007.
18. Kankaanpää M, Lehto HR, Parkka JP, et al. Myocardial triglyceride content and epicardial fat mass in human obesity: Relationship to left ventricular function and serum free fatty acid levels. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 4689-4695, 2006.
19. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, et al. Increased mediastinal fat and impaired left ventricular energy metabolism in young men with newly found fatty liver. *Hepatology* 47: 51-58, 2008.
20. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S, et al. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 42: 473-480, 2005.
21. Fracanzani AL, Burdick L, Raselli S, et al. Carotid artery intima-media thickness in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Med* 121: 72-78, 2008.
22. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Relation of nonalcoholic hepatic steatosis to early carotid atherosclerosis in healthy men: Role of visceral fat accumulation. *Diabetes Care* 27: 2498-2500, 2004.
23. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Relations between carotid artery wall thickness and liver histology in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 29: 1325-1330, 2006.
24. Chalasani N, Deeg MA, Crabb DW. Systemic levels of lipid peroxidation and its metabolic and dietary correlates in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 99: 1497-1502, 2004.
25. Targher G, Bertolini L, Scala L, et al. Non-alcoholic hepatic steatosis and its relation to increased plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction in non-diabetic men. Role

- of visceral adipose tissue. *Diabet Med* 22: 1354-1358, 2005.
26. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 29-33, 2004.
27. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, et al. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 35: 898-904, 2002.
28. Yamaguchi K, Yang L, McCall S, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 45: 1366-1374, 2007.
29. Beraza N, Malato Y, Vander Borgh S, et al. Pharmacological IKK2 inhibition blocks liver steatosis and initiation of non-alcoholic-steatohepatitis. *Gut* (in press), 2008.
30. Kanda H, Tateya S, Tamori Y, et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest* 116: 1494-1505, 2006.
31. Marra F. Chemokines in liver inflammation and fibrosis. *Front Biosci* 7: d1899-1914, 2002.
32. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, et al. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 3498-3504, 2005.
33. Fishman S, Muzumdar RH, Atzmon G, et al. Resistance to leptin action is the major determinant of hepatic triglyceride accumulation in vivo. *Faseb J* 21: 53-60, 2007.
34. Huang W, Dedousis N, O'Doherty RM. Hepatic steatosis and plasma dyslipidemia induced by a high-sucrose diet are corrected by an acute leptin infusion. *J Appl Physiol* 102: 2260-2265, 2007.
35. Marra F. Leptin and liver tissue repair: Do rodent models provide the answers? *J Hepatol* 46: 12-18, 2007.
36. Rubio A, Guruceaga E, Vazquez-Chantada M, et al. Identification of a gene-pathway associated with non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 46: 708-718, 2007.
37. Schwabe RF, Brenner DA. Nuclear factor-kappaB in the liver: Friend or foe? *Gastroenterology* 132: 2601-2604, 2007.
38. Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature* 440: 944-948, 2006.
39. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, et al. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 125: 437-443, 2003.
40. Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, et al. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 44: 27-33, 2006.
41. Ikura Y, Ohsawa M, Suekane T, et al. Localization of oxidized phosphatidylcholine in nonalcoholic fatty liver disease: Impact on disease progression. *Hepatology* 43: 506-514, 2006.
42. Bigorgne AE, Bouchet-Delbos L, Naveau S, et al. Obesity-induced lymphocyte hyperresponsiveness to chemokines: A new mechanism of fatty liver inflammation in obese mice. *Gastroenterology* 134: 1459-1469, 2008.
43. Novobrantseva TI, Majeau GR, Amatucci A, et al. Attenuated liver fibrosis in the absence of B cells. *J Clin Invest* 115: 3072-3082, 2005.
44. Cai D, Yuan M, Frantz DF, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nature Med* 11: 183-190, 2005.
45. Marciniak SJ, Ron D. Endoplasmic reticulum stress signaling in disease. *Physiol Rev* 86: 1133-1149, 2006.
46. Dela Pena A, Leclercq I, Field J, et al. NF-kappaB activation, rather than TNF, mediates hepatic inflammation in a murine dietary model of steatohepatitis. *Gastroenterology* 129: 1663-1674, 2005.
47. Forlani G, Di Bonito P, Mannucci E, et al. Prevalence of elevated liver enzymes in type 2 diabetes mellitus and its association with the metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest* 31: 146-152, 2008.
48. Marchesini G, Avagnina S, Barantani EG, et al. Aminotransferase and gamma-glutamyltranspeptidase levels in obesity are associated with insulin resistance and the metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest* 28: 333-339, 2005.
49. Prati D, Taioli E, Zanella A, et al. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med* 137: 1-10, 2002.
50. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, et al. Risk of severe liver disease in NAFLD with normal aminotransferase levels: A role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology* 48: 792-798, 2008.
51. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 37: 1286-1292, 2003.
52. Myers RP, Fong A, Shaheen AA. Utilization rates, complications and costs of percutaneous liver biopsy: A population-based study including 4275 biopsies. *Liver Int* 28: 705-712, 2008.
53. Gaidos JK, Hillner BE, Sanyal AJ. A decision analysis study of the value of a liver biopsy in nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 28: 650-658, 2008.
54. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 45: 846-854, 2007.
55. Guha IN, Parkes J, Roderick P, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology* 47: 455-460, 2008.
56. Ratzu V, Giral P, Jacqueminet S, et al. Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: One-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. *Gastroenterology* 135: 100-110, 2008.
57. Marchesini G, Forlani G, Bugianesi E. Is liver disease a threat to patients with metabolic disorders? *Ann Med* 37: 333-346, 2005.
58. de Marco R, Locatelli F, Zoppini G, et al. Cause-specific mortality in type 2 diabetes. The Verona Diabetes Study. *Diabetes Care* 22: 756-761, 1999.
59. Browning JD, Davis J, Saboorian MH, Burgess SC. A low-carbohydrate diet rapidly and dramatically reduces intrahepatic triglyceride content. *Hepatology* 44: 487-488, 2006.
60. Bugianesi E, Marzocchi R, Villanova N, Marchesini G. Non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH): Treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 18: 1105-1116, 2004.
61. Bugianesi E, Gentilecore E, Manini R, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 100: 1082-1090, 2005.
62. Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al. A placebo-controlled trial

- of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 355: 2297–2307, 2006.
63. Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, et al. Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR-gamma ligand rosiglitazone. *Hepatology* 38: 1008–1017, 2003.
 64. Promrat K, Lutchman G, Uwaifo GI, et al. A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 39: 188–196, 2004.
 65. Lutchman G, Modi A, Kleiner DE, et al. The effects of discontinuing pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 46: 424–429, 2007.
 66. Huang MA, Greenon JK, Chao C, et al. One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with non-alcoholic steatohepatitis: A pilot study. *Am J Gastroenterol* 100: 1072–1081, 2005.
 67. Suzuki A, Lindor K, St Sauver J, et al. Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 43: 1060–1066, 2005.
 68. Bellentani S, Dalle Grave R, Suppini A, Marchesini G. Behavior therapy in nonalcoholic fatty liver disease: The need for a multidisciplinary approach. *Hepatology* 47: 746–754, 2008.

