

Quando il fegato diventa grasso: la steatosi una patologia in rapida diffusione

E. Albano

Dipartimento di Scienze Mediche, Università "A. Avogadro" del Piemonte Orientale, Novara

Riassunto

Il termine steatosi identifica una lesione epatica assai frequente caratterizzata dall'accumulo di trigliceridi nel citoplasma degli epatociti. Sebbene il riscontro di steatosi epatica sia comune dopo abuso, anche occasionale, di alcool ed in corso di epatite C, il crescente interesse verso questa patologia è legato al suo frequente riscontro in associazione con l'insulino resistenza nella così detta NAFLD (Non Alcoholic Fatty Liver Disease) che costituisce uno degli aspetti della Sindrome Metabolica. La prevalenza della NAFLD nella popolazione generale si aggira fra il 12-30%, ma raggiunge oltre il 70% nei soggetti obesi. Sebbene questa condizione sia frequentemente benigna, nel 20-30% dei pazienti con NAFLD la malattia progredisce a steatoepatite (NASH; NonAlcoholic SteatoHepatitis) che può evolvere a cirrosi e, in alcuni casi, ad epatocarcinoma. In questo ambito, un aspetto particolarmente preoccupante è il crescente riscontro di NASH nei bambini in relazione alla diffusione dell'obesità in età pediatrica. Al momento una diagnosi accurata di NAFLD/NASH è basata sull'esecuzione della biopsia epatica. Peraltro la crescente diffusione della malattia ha stimolato l'interesse allo sviluppo di procedure diagnostiche non-invasive capaci di individuare la presenza di steatosi e/o steatoepatite nonché di determinare l'estensione della fibrosi epatica, che è un importante predittore del rischio di cirrosi. Fra queste procedure, le più promettenti interessano il patologo clinico e sono basate sull'uso di algoritmi che utilizzano i valori di alcuni esami ematochimici di routine o riguardano nuovi marcatori biochimici di danno epatico e/o di fibrosi. Seppur con qualche limitazione, alcune di queste procedure hanno dimostrato buone potenzialità diagnostiche in confronto con la biopsia epatica, ma ulteriori ricerche sono necessarie per validare tali marcatori e svilupparne di nuovi con migliori caratteristiche diagnostiche.

Summary

When the liver become fat: hepatic steatosis a fast spreading disease

Liver steatosis is characterized by hepatocyte overload by large amounts of triglycerides. Although steatosis is frequent following excessive alcohol intake and in chronic hepatitis C, the growing interest for this hepatic lesion stems from its frequent association with insulin resistance in the contest of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). NAFLD is the most frequent hepatic lesion in western countries with a prevalence in the general population ranging from 12 to 30%, but exceeding 70% among overweight individuals. Although hepatic steatosis is often benign, in about 20-30% of NAFLD patients the disease can progress to nonalcoholic steato-hepatitis (NASH), cirrhosis and in some case to hepatocellular carcinoma. A particularly worrying aspect of NASH is his diffusion among children in relation to the spreading of paediatric obesity. At present, an accurate diagnosis of NAFLD/NASH relay on liver biopsy. However, the growing diffusion of NAFLD/NASH has lead to the development of new non-invasive procedures capable to detect NASH and to the predict the extent of fibrosis that represents the main risk factor for the evolution to cirrhosis. Among these procedures algorithms based on routine laboratory tests and new biochemical markers of liver injury and fibrosis have shown good diagnostic potential as compared to liver biopsies. However, further studies are required to better validate the available markers and to develops better ones.

Key-words: Hepatic steatosis, Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Liver fibrosis.

Introduzione

Una delle conseguenze della diffusione quasi epidemica dell'obesità in tutto il mondo è un aumento della prevalenza di una condizione nota come "fegato grasso" o steatosi epatica caratterizzata dall'accumulo di trigliceridi nel citoplasma degli epatociti che conferisce loro un aspetto simile alle cellule adipose. Da un punto di vista quantitativo un fegato viene definito steatosico quando la concentrazione di trigliceridi supera il 5% del peso dell'organo o quanto all'esame istologico si osserva accumulo di grasso in oltre il 5% degli epatociti¹. La steatosi rappresenta la lesione preponderante di una nuova malattia denominata Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD), ovvero malattia epatica da fegato grasso non dipendente dall'alcool¹. Questa denominazione deriva dal fatto che la NAFLD presenta caratteristiche istopatologiche simili alla steatosi indotta dall'abuso alcolico pur comparando in soggetti non bevitori¹. Nei paesi occidentali la NAFLD costituisce una delle più frequenti lesioni epatiche, con una prevalenza nella popolazione generale variabile fra il 12% e il 30% che sale ad oltre il 70% nei soggetti obesi². Sebbene la NAFLD sia frequentemente benigna, nel 20-30% dei pazienti la malattia progredisce a steatoepatite (NASH) caratterizzata dalla presenza di danno epatocitario (apoptosi e/o necrosi focale, rigonfiamento, presenza di corpi di Mallory), infiammazione lobulare e fibrosi di vario grado. La NAFLD e la NASH sono considerate le manifestazioni epatiche della così detta Sindrome Metabolica che accomuna diversi sintomi clinici legati all'obesità viscerale, quali, resistenza all'insulina, dislipidemia ed ipertensione e rappresenta il principale fattore di rischio per lo sviluppo di diabete mellito di tipo 2 e di malattie cardiovascolari². Nel corso della sindrome metabolica la presenza di steatosi epatica contribuisce in modo significativo ad aggravare la resistenza all'insulina e la dislipidemia. Ma l'aspetto più rilevante è dato dal fatto che in una percentuale significativa di soggetti le lesioni epatiche che caratterizzano la NAFLD/NASH progrediscono verso la cirrosi epatica e più raramente fino alla comparsa di epatocarcinoma². Infatti, nel 15% dei pazienti con NASH compaiono entro 8 anni segni clinici ed istopatologici di cirrosi con una mortalità compresa fra 12% ed il 25%, mentre nei soggetti con cirrosi la comparsa di epatocarcinoma varia fra 4 e 27%. Un aspetto particolarmente preoccupante di questa malattia è il crescente riscontro di NASH nei bambini in relazione alla diffusione dell'obesità in età pediatrica. Al momento si calcola che la prevalenza di NASH pediatrica si aggiri intorno al 10%¹. Nel suo complesso la crescente diffusione di NAFLD/NASH sia tra gli adulti che nei bambini fanno ritenere che presto questa malattia costituirà una delle cause più frequenti di insufficienza epatica.

Meccanismi patogenetici della NAFLD/NASH

La rilevanza clinica e sociale della NAFLD/NASH ha stimolato un gran numero di studi sia clinici che sperimentali nel tentativo di chiarirne i meccanismi patogenetici onde poter sviluppare terapie efficaci. I dati fin ora ottenuti indicano che la steatosi sia il risultato di alterazioni del metabolismo degli acidi grassi conseguenti ad una condizione di resistenza all'insulina che coinvolge tanto il fegato

quanto il tessuto adiposo. Infatti, a causa della ridotta risposta all'insulina, i soggetti con NAFLD presentano un'aumentata lipolisi a carico del grasso sottocutaneo e viscerale a cui consegue un aumento degli acidi grassi liberi (FAA) in circolo³. A ciò spesso si aggiunge anche un aumento del quantitativo di FAA introdotti con la dieta. L'aumentato apporto epatico di FAA che ne deriva stimola la sintesi di trigliceridi da parte degli epatociti. Inoltre nel fegato dei soggetti con NAFLD si osserva spesso una ridotta ossidazione di FAA a livello dei mitocondri ed un aumento della sintesi "de novo" di FAA a partire da acetil-coenzima A. In queste condizioni, nonostante la secrezione di trigliceridi sotto forma di VLDL sia aumentata si verifica uno squilibrio tra la produzione e la secrezione dei trigliceridi stessi che porta al loro progressivo accumulo all'interno degli epatociti³. Accanto a questi fenomeni, l'espansione del tessuto adiposo che caratterizza l'obesità si associa con l'infiltrazione del grasso da parte di cellule infiammatorie in particolare di macrofagi attivati che producono citochine/chemochine pro-infiammatorie, quali TNF- α , IL-6, MCP-1². Questo stato pro-infiammatorio del tessuto adiposo contribuisce a determinare resistenza all'insulina, favorisce la liberazione di FAA dagli adipociti e ne riduce l'ossidazione epatica. Inoltre l'infiammazione del tessuto adiposo altera la secrezione delle adipochine, incrementando la produzione di leptina e resistina, diminuendo invece quella di adiponectina⁴. Lo squilibrio fra i livelli circolanti di resistina ed adiponectina favorisce la deposizione di trigliceridi nel fegato in quanto queste adipochine influenzano in maniera opposta le gluconeogenesi ed il metabolismo lipidico.

I meccanismi responsabili per la progressione della NAFLD a NASH ed a cirrosi sono ancora meno conosciuti. Come detto la NASH è caratterizzata da apoptosi e/o necrosi focale degli epatociti, infiammazione lobulare e fibrosi di vario grado. Si ritiene che il danno epatico sia una conseguenza dell'eccessivo accumulo intracellulare di FAA che danneggiano i mitocondri inducendo un aumento nella formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS)⁴. Ulteriori fonti di ROS sono rappresentate dall'induzione di diverse isoforme di citocromo P450 (CYP2E1, CYP4A10) che partecipano all'ossidazione di FAA, nonché l'attivazione delle cellule di Kupffer indotta dagli stimoli pro-infiammatori. La presenza di stress ossidativo in corso di NASH è documentata dalla presenza nel fegato ed in circolo di prodotti di ossidazione di lipidi e proteine e dalla diminuzione delle difese antiossidanti⁴. A loro volta, i danni ossidativi insieme con la ridotta produzione di ATP conseguente alle lesioni mitocondriali riducono la risposta epatica all'insulina, favoriscono l'accumulo di trigliceridi e causano la morte degli epatociti per necrosi o apoptosi. I meccanismi che inducono le risposte infiammatorie sono largamente inter-dipendenti da quelli che determinano i danni cellulari. Infatti, l'aumento di FAA e lo stress ossidativo negli epatociti inducono la produzione da parte di questi di citochine pro-infiammatorie (TNF- α e IL-6) che a loro volta stimolano le cellule di Kupffer ad attivarsi ed a rilasciare ROS, prostaglandine ed ulteriori citochine/chemochine pro-infiammatorie (MCP-1, IL-8), che promuovono il reclutamento nel fegato di granulociti neutrofili e monociti². Inoltre è stato ipotizzato che un'aumentata per-

meabilità intestinale a prodotti batterici possa favorire l'infiammazione epatica attraverso la stimolazione dei recettori Toll-like. In linea con questi dati, la produzione di citochine/chemochine pro-infiammatorie nei pazienti con NASH correla con la gravità del danno epatico⁴. Un fattore rilevante nello sviluppo di infiammazione in corso di NASH coinvolge anche le alterazioni nella secrezione di adipochine, in quanto adiponectina ha un effetto anti-infiammatorio, mentre la leptina esplica un'azione pro-infiammatoria ed attivante le risposte immunitarie². L'infiammazione epatica che consegue a questi eventi contribuisce a causare sia stress ossidativo che morte cellulare, le quali, a loro volta, alimentano ed amplificano le risposte infiammatorie. Infine, nella NASH così come in altre epatopatie croniche, lo stato infiammatorio è responsabile per la comparsa di fibrosi. Infatti, sotto l'influenza di stimoli pro-infiammatori le cellule di Kupffer rilasciano citochine e chemochine (TGF- β 1, PDGF, MCP-1) che inducono le cellule stellate epatiche a trasformarsi in miofibroblasti responsabili della produzione di collagene e di componenti della matrice extracellulare⁴. L'accumulo di collagene è anche favorito da alterazioni nella regolazione dei processi di degradazione della matrice ad opera delle metallo-proteasi. La fibrosi associata a NASH si sviluppa inizialmente negli spazi peri-sinusoidali delle aree centrolobulari con un aspetto a "rete di pollaio" per poi diffondere verso le aree peri-portali. Si ritiene che le alterazioni delle adipochine di cui si è detto in precedenza contribuiscano a favorire l'evoluzione della fibrosi in quanto leptina ed adiponectina esercitano azioni antagoniste nel regolare la sopravvivenza e l'attività delle cellule stellate epatiche⁴.

La diagnostica di laboratorio nella NAFLD/NASH

Dal punto di vista clinico la NAFLD/NASH non presenta una sintomatologia specifica ed in molti casi la malattia decorre per molti anni in maniera silente. I test di laboratorio che vengono generalmente utilizzati per la valutazione dei pazienti con NAFLD/NASH includono i comuni test epatici, quali transaminasi (AST e ALT), fosfatasi alcalina (ALP), gamma-glutamyl-transpeptidasi (GGT), albumina e tempo di protrombina. Un aumento di AST ed ALT, e in particolare un aumento del rapporto AST/ALT, sono le principali anomalie osservabili in corso di NAFLD/NASH e tendono ad essere più marcati nei soggetti con NASH rispetto a quelli con sola steatosi. Tuttavia l'incremento delle transaminasi di rado supera le 5 volte i valori di riferimento ed è variabile nel tempo, tanto che due terzi dei soggetti con NASH hanno valori nella norma⁵. Ciò fa sì che la sensibilità di AST e ALT nella diagnosi di NASH sia piuttosto bassa (circa 40%). ALP e GGT sono in genere poco modificate e la loro utilità diagnostica è ancora minore, mentre le alterazioni di albumina, bilirubina e tempo di protrombina si manifestano solo con la comparsa di cirrosi⁵. L'ecografia è in genere capace di rilevare la steatosi epatica, specie se marcata, ma risulta poco efficiente quando questa è inferiore al 30%. Inoltre nei soggetti obesi la sua sensibilità si riduce ulteriormente a causa di difficoltà tecniche nell'esecuzione dell'esame. La tomografia computerizzata e la risonanza magnetica sono più efficienti dell'ecografia per valutare la steatosi ma come

l'ecografia non permettono di distinguere la steatosi dalla NASH. Allo stesso modo l'efficacia dell'elastografia epatica (FibroScan®, Echosens, Parigi, Francia) nel definire l'estensione della fibrosi epatica in corso di NASH risulta essere ancora piuttosto incerta⁵. Al momento una diagnosi accurata di NAFLD/NASH è basata quasi esclusivamente sull'esecuzione della biopsia epatica. L'esame istologico è per altro indispensabile per definire l'entità della steatoepatite e l'eventuale presenza ed estensione della fibrosi che rappresentano i fattori predittivi più importanti per definire il rischio di evoluzione in cirrosi. Peraltro la crescente diffusione della malattia ha stimolato l'interesse allo sviluppo di procedure diagnostiche non-invasive capaci di individuare la presenza di steatosi e/o di steatoepatite e di predire l'estensione della fibrosi epatica. La ricerca in questo senso si è articolata su due percorsi differenti: da una parte la caratterizzazione di nuovi marcatori biochimici e dell'altra lo sviluppo di algoritmi diagnostici utilizzando test di laboratorio e parametri clinici di uso corrente.

Marcatori di steatosi

Al momento l'unico test proposto per l'individuazione della steatosi è lo SteatoTest® (BioPredictive, Parigi, Francia) un algoritmo brevettato che include i valori ematici di α 2-macroglobulina, aptoglobina, apolipoproteina A1, GGT, bilirubina totale, ALT, colesterolo, trigliceridi e glucosio corretti per età e genere. I risultati variano tra 0 ed 1 ed in uno studio condotto in 434 pazienti con epatopatia alcolica o epatite C si è osservato che, il cut off inferiore a 0,3, è in grado di escludere la presenza di steatosi con una sensibilità compresa fra 85% e 100% mentre, il cut off superiore pari a 0,7, ha una specificità tra 83-100%⁶. Al momento però l'efficacia dello SteatoTest® non è stata ulteriormente verificata e non ci sono studi condotti in pazienti con NAFLD. In maniera analoga, richiede ulteriori conferme il possibile uso quale indicatore di steatosi del dosaggio dei livelli plasmatici della proteina legante il retinolo-4, un'adipochina coinvolta nello sviluppo dell'insulino resistenza.

Marcatori di NASH

Una caratteristica distintiva del passaggio dalla semplice steatosi epatica alla NASH è data dalla presenza di infiammazione e di danno epatocellulare. La possibilità di utilizzare il dosaggio dei livelli sierici di citochine pro-infiammatorie o di proteina C reattiva quali indicatori dello stato di infiammazione epatica è stato valutato con esiti per ora poco soddisfacenti. Al contrario, un recente studio ha messo in evidenza come la misurazione dei livelli plasmatici dei frammenti di citocheratina 18 (CK-18) possa costituire un potenziale indicatore per la presenza di NASH. La citocheratina 18 è una proteina caratteristica dei filamenti intermedi degli epatociti e nelle cellule che vanno in apoptosi è soggetta a specifico clivaggio proteolitico ad opera della caspasi 3. Nei pazienti con NASH conclamata i frammenti di CK-18 aumentano significativamente rispetto sia ai soggetti di controllo che a quelli con diagnosi incerta di steatoepatite. All'analisi multivariata la presenza di frammenti di CK-18 è risultato essere un marcatore indipendente di NASH con una specificità ed una sensibilità per la diagnosi di NASH rispettivamente del 94% del 90,5%⁷

Tabella I. Caratteristiche diagnostiche dei test per la valutazione della presenza di steatoepatite (NASH) in pazienti con NAFLD.

Test	Parametri	Cut-off	AUROC	Sensibilità (%)	Specificità (%)	VPP (%)	VPN (%)
NASH Test® ^(a)	Età, genere, BMI, trigliceridi, colesterolo, aptoglobina, AST, ALT, α 2-macroglobulina, apolipoproteina A1, GGT, bilirubina totale	ND	0,79	29	98	91	71
Indice di Palekar ^(b)	Età > 50 anni, genere femminile, AST \geq 45 U/L, rapporto AST/ALT \geq 0,8, BMI \geq 30, acido ialuronico \geq 55 μ g/L	\geq 3	0,76	74	66	68	71
Indice di Scimada ^(c)	Adiponectina sierica, HOMA-IR, livello sierico di collagene IV	ND	ND	94	74	94	74
Frammenti di citocheratina 18 (CK-18) ^(d)	Dosaggio ematico dei frammenti di citocheratina 18	380 U/ml	0,83	94	90	-	-

BMI Indice di peso corporeo; HOMA-IR indice omeostatico per la determinazione della resistenza all'insulina

^(a) Ponyard T et al. BMC Gastroenterol 2006;6:34; ^(b) Palekar NA et al. Liver Int 2006;26:151-156; ^(c) Shimada M et al. Am J Gastroenterol 2007; 102:1931-1938; ^(d) Feldstein AE, et al. Hepatol 2009;50:1072-1078.

(Tab. I). Occorre però tenere presente che in quanto indicatore di apoptosi gli aumenti di CK-18 non sono specifici per la NASH e sono anche associati ad epatopatia alcolica ed epatocarcinomi. Ciò nonostante, le potenzialità di questo marcatore nell'evidenziare tra i soggetti con NAFLD la presenza di steatoepatite sono sicuramente interessanti e meritano ulteriori approfondimenti. Per quanto riguarda i test basati su algoritmi al momento ne sono stati proposti tre (Tab. I). Tutti sono basati sulla combinazione di parametri clinici di obesità e di resistenza all'insulina quali l'indice di peso corporeo (BMI; Body Mass Index) e l'indice HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance, indice omeostatico per la determinazione della resistenza all'insulina) e di diversi esami biochimici correnti, opportunamente corretti per età e genere. Per ora nessuno di questi test è stato validato da studi indipendenti e la loro efficacia nel discriminare le forme meno gravi di NASH resta dubbia.

Marcatori di fibrosi

Nei soggetti affetti da NAFLD/NASH il riscontro istopatologico di fibrosi rappresenta il segno più preoccupante in quanto suggerisce la presenza di un danno epatico grave con una tendenza alla progressione verso la cirrosi. Pertanto in questi pazienti una determinazione accurata dell'estensione di fibrosi è essenziale per la prognosi. In questi ultimi anni numerose ricerche sono state dedicate a sviluppare marcatori di fibrosi applicabili alla NAFLD così come ad altre epatopatie croniche utilizzando due approcci diversi: a) l'uso combinato di esami biochimici di routine che presentano associazioni statisticamente significative con il rischio di fibrosi, ma non sono direttamente correlabili ai meccanismi di fibrogenesi (α 2-macroglobulina, aptoglobina, apolipoproteina A1, GGT, bilirubina totale, ALT, colesterolo, trigliceridi, glucosio, conta piastrinica, BMI, età e genere); b) l'uso di marcatori biochimici direttamente connessi con i processi di sintesi e/o degradazione di componenti della matrice extracellulare (acido ialuronico, col-

lageno IV e VI, peptide aminotermiale del collagene III (PIIINP), metalloproteinasi 9 della matrice, inibitore tessutale 1 delle metalloproteasi (TIMP-1), tenascina, laminina) e quindi più direttamente riconducibili agli eventi associati alla fibrosi. Per quanto riguarda il primo gruppo di test questo comprende: il BAAT Score, il NAFLD Fibrosis Score, il FibroTest® (BioPredictive, Parigi, Francia) ed il FibroMeter® (BioLiveScale, Angers, Francia) che utilizzano varie combinazioni di comuni indici clinici e biochimici (Tab. II). Questi test sono stati validati in confronto con l'estensione della fibrosi determinata nelle biopsie epatiche ed hanno in generale evidenziato buone caratteristiche diagnostiche (Tab. II) particolarmente in relazione alla presenza di fibrosi avanzata (F \geq 2/3). Fra questi il FibroTest® è quello che ha avuto la più diffusa applicazione⁸. Tuttavia, occorre notare che tutti questi test hanno una modesta capacità di evidenziare la fibrosi nelle fasi iniziali⁵. Inoltre alcuni di questi (NAFLD Fibrosis Score, FibroTest®), utilizzano due valori di cut off (basso e alto) che migliorano la specificità e la sensibilità diagnostica, ma fanno sì che una frazione rilevante di pazienti (25-33%) non sia valutabile in quanto i loro valori si trovano fra i due cut off⁵. Infine è importante rilevare che l'utilizzazione dei valori di bilirubina ed aptoglobina nel FibroTest® lo rende inaccurato in presenza di Sindrome di Gilbert, colestasi, epatite acuta dove questi parametri sono aumentati. A ciò va aggiunto che nei pazienti con NAFLD si possono osservare anomalie nei livelli di apolipoproteina A1 conseguenti al dismetabolismo lipidico che possono inficiare l'uso del FibroTest®⁵. In fine, per nessuno di questi test l'utilizzazione in corso di NAFLD/NASH è stata finora validata in studi indipendenti.

Il secondo gruppo di test proposti per l'individuazione della fibrosi si avvale del dosaggio ematico dell'acido ialuronico da solo o in combinazione con altri composti derivati dalla matrice extracellulare quali il collagene di tipo IV e di tipo VI, il peptide aminotermiale del collagene di tipo III, l'inibitore tessutale 1 delle metalloproteasi (Enhan-

Tabella II. Caratteristiche diagnostiche dei test per la valutazione della estensione di fibrosi in pazienti con NAFLD.

Test	Parametri	Severità della Fibrosi	Cut-off	AUROC	Sensibilità (%)	Specificità (%)	VPP (%)	VPN (%)
FibroTest® ^(a)	Età, genere, GGT, aptoglobina, AST, ALT, α2-macroglobulina, apolipoproteina A1, bilirubina totale	F≥2	0,3 0,7	0,81	77	77	54	90
		F≥3	0,3 0,7	0,88	15 92 25	98 71 97	73 33 60	76 98 94
BAAT Score ^(b)	BMI, Età, ALT, trigliceridi	F≥2	2	0,84	71	80	61	86
NAFLD Fibrosis Score ^(c)	Età, iperglicemia, BMI, conta piastrinica, albumina, rapporto AST/ALT	F≥3	≤1,455 >0,676	0,82	77	71	52	88
FibroMeter® ^(d)	Età, peso, conta piastrinica, ferritina, glucosio, AST, ALT	F≥2	ND	0,94	79	96	89	92
Acido Ialuronico ^(e)	Dosaggio del contenuto plasmatico di acido ialuronico	F≥3	46,1 µg/L	0,92	85	80	51	96
Enhanced Liver Fibrosis Test (ELF®) ^(f)	Età, acido ialuronico, TIMP-1, PIINP	F≥3	0,375	0,87	89	96	80	98
NS Score ^(g)	Valori ematici di collagene IV (CIV) ed acido ialuronico (IA)	F≥3	CIV≥5 or AI≥50 µg/L	ND	96	63	66	95
			CIV≥5 + AI≥50 µg/L		54	92	84	73

BMI Indice di peso corporeo; PIINP peptide aminoterminale del collagene III; TIMP-1 inibitore tissutale 1 delle metalloproteasi.

^(a) Ratziu V et al. BMC Gastroenterol 2006;6:6; ^(b) Ratziu V et al. Gastroenterol 2000;118;1117-1123; ^(c) Angulo P et al. Hepatol 2007;45:846-854; ^(d) Calès P et al. J Hepatol 2009;50:165-173; ^(e) Suzuki A et al. Liver Int 2005;25:779-786; ^(f) Guha IN et al. Hepatol 2008;47:455-460; ^(g) Sakugawa H et al. World J Gastroenterol 2005;11:255-259.

ced Liver Fibrosis Test, ELF®; iQur Ltd, Southampton, UK)⁹. Il razionale di questo approccio è basato sul fatto che la produzione di questi composti aumenta in seguito all'attivazione delle cellule stellate epatiche durante i processi di fibrosi⁵. Sebbene in linea di principio questo approccio possa apparire più efficace per evidenziare la presenza di fibrosi, la specificità di questi marcatori non è completamente accertata. Nel caso delle applicazioni alla NAFLD/NASH i test basati sul dosaggio di composti derivati dalla matrice extracellulare hanno dimostrato buone capacità diagnostiche (Tab. II), ma anche per loro valgono le stesse limitazioni dei precedenti ed in particolare la mancanza di ulteriori validazioni in studi indipendenti ed una modesta capacità di evidenziare la fibrosi moderata⁵.

Conclusioni

La crescente diffusione della NAFLD/NASH ha stimolato l'interesse allo sviluppo di procedure diagnostiche non-invasive basate su algoritmi che utilizzano i valori di alcuni esami ematochimici di routine o su marcatori biochimici di danno epatico e/o di fibrosi al fine di individuare la presenza di steatoepatite e di predire l'estensione della fibrosi epatica. Seppur con diverse limitazioni, alcune di queste procedure hanno dimostrato buone potenzialità diagnostiche in confronto con la biopsia epatica, ma ulteriori ricerche sono necessarie per meglio validare i test già proposti e svilupparne di nuovi con migliori caratteristiche diagnostiche. A quest'ultimo proposito l'analisi tramite tecniche di proteomica di campioni ematici provenienti da

soggetti obesi di controllo e da pazienti con NAFLD che presentavano sola steatosi o steatoepatite ha messo in luce le potenzialità di alcuni nuovi marcatori (catena β del fibrinogeno, proteina legante il retinolo 4, proteina P dell'amiloide, lumicanina, componente C7 del complemento, subunità acido-labile dell'insulin-like growth factor, e transgelina 2) di differenziare con buona efficienza la presenza di NAFLD e/o NASH¹⁰. Queste osservazioni lasciano sperare in importanti prospettive di sviluppo della diagnostica laboratoristica in questo campo.

Bibliografia

1. Brunt E. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2010; 7:195-203.
2. Sanyal AJ. Mechanisms of disease: pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2005; 2:46-53.
3. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and fatty liver disease: biochemical, metabolic and clinical implication. Hepatology 2010; 51:1470-1.
4. Marra F, Gastaldelli A, Svegliati Baroni G, Tell G, Tiribelli C. Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis. Trends Mol Med 2008; 14:72-81.
5. Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of non-alcoholic steatohepatitis: present and future. Hepatology 2007; 46:582-9.
6. Poyard T, Ratziu V, Naveau S, Thabut D, Messous D, Capron D, et al. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. Comp Hepatol 2005; 4:10.
7. Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as non-invasi-

- ve biomarkers for non-alcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. *Hepatology* 2009; 50:1072-8.
8. Poynard T, Morra R, Ingiliz P, Imbert-Bismut F, Thabut D, Messous D, et al. Biomarkers of liver fibrosis. *Adv Clin Chem* 2008; 46:131-60.
 9. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis : a cohort study. *Gastroenterology* 2004; 127:1704-13.
 10. Bell LN, Theodorakis JL, Vuppalanchi R, Safena R, Bemis KG, Wang M, et al. Serum proteomics and biomarker discovery across the spectrum of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 51:111-20.