

LE INFEZIONI IN MEDICINA

*The Official Journal
of the Italian Society of Infectious
and Tropical Diseases*



is Indexed in EMBASE/Excerpta Medica,
PubMed/Medline/Index Medicus, Scopus,
Ebsco, SCImago, Scirus, Google Scholar

A quarterly journal
on etiology, epidemiology,
diagnosis and therapy
of infections

Speciale 1 - 2020

LE INFEZIONI IN MEDICINA

THE OFFICIAL JOURNAL OF THE ITALIAN SOCIETY OF INFECTIOUS AND TROPICAL DISEASES

A quarterly journal covering the etiological, epidemiological, diagnostic, clinical and therapeutic aspects of infectious diseases

Speciale 1 - 2020



Edizioni Internazionali srl

Divisione EDIMES

Edizioni Medico-Scientifiche - Pavia

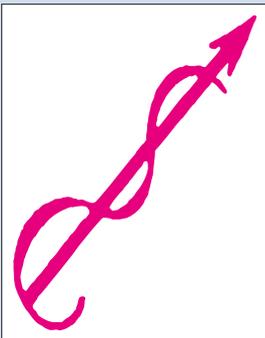
Via Riviera 39 - 27100 Pavia
Phone +39 0382/526253
Fax +39 0382/423120
e-mail: edint.edimes@tin.it

Registrazione
Trib. di Milano n. 506
del 6/9/2007

Editorial office

Department of Medicine
and Surgery
University of Salerno, Italy
Largo Città di Ippocrate s.n.c.
84131 Salerno, Italy
Phone +39 089 672420
Fax +39 089 2144269
e-mail: info@infezmed.it
website: www.infezmed.it

Journal Manager and Publisher
P.E. Zoncada



Non Alcoholic Steato Hepatitis (NASH)

SOMMARIO

5 Introduzione

Loreta A. Kondili

9 La steatosi epatica - è una vera entità clinica?

Massimo Galli

15 Fisiopatologia della NAFLD-NASH e Malattie Infettive

Gloria Taliani, Loreta A. Kondili

35 NAFLD-NASH ed HIV: epidemiologia e diagnostica d'immagine

Laura Maiocchi, Carlo Filice

54 Steatosi epatica da farmaci: una panoramica

Cristina Gervasoni

67 Strategie farmacologiche attuali e future per la terapia della steatoepatite non-alcolica (NASH) nel paziente adulto

Dario Cattaneo

INTRODUZIONE

Loreta A. Kondili

Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riportata nei referti di esami ecografici eseguiti per altre finalità, o in seguito al riscontro casuale di una ipertransaminasemia, la steatosi epatica ed il suo corretto inquadramento sono diventate un problema clinico rilevante non soltanto sotto il profilo gastroenterologico, in quanto destinata a diventare la causa primaria di cirrosi ed epatocarcinoma (HCC), ma anche in ambito endocrinologico, internistico e infettivologico, quale fattore di rischio indipendente di malattia cardiovascolare e complicanze dismetaboliche sia in popolazione generale che in quella infetta da HIV.

Considerata fino a non molti anni fa una condizione benigna, oggi si ritiene che in una certa proporzione di casi la steatosi (ossia *Non Alcoholic Fatty Liver*) possa assumere un decorso evolutivo, in particolare quando ad essa si associano infiammazione e danno epatocellulare. Questa condizione, denominata “steatoepatite non alcolica (*NASH: nonalcoholic steatohepatitis*)” si associa ad attivazione della fibrogenesi e può evolvere in cirrosi e HCC. L’importanza clinica della *Non Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) è inoltre legata all’effetto indipendente di promozione del danno cardiovascolare, che si aggiunge a quello del dismetabolismo stesso. Inoltre, la NAFLD sembra essere associata ad un aumentato rischio di neoplasia, sia epatico che extraepatico. Inoltre, l’HCC insorge non soltanto in stadio cirrotico ma anche in epatopatie croniche pre-cirrotiche. Il documento è organizzato in 5 sezioni che ripercorrono dati epidemiologici, il meccanismo patogenetico della NASH, il collegamento con le malattie infettive e il percorso diagnosti-

co-terapeutico del paziente estendendosi anche a problematiche extra-epatiche. In ciascuna delle sezioni sono specificati i punti chiave, con possibile approfondimento nelle voci bibliografiche costituite da una selezione degli articoli scientifici più recenti e rappresentativi.

Come dettagliatamente descritto nel capitolo NAFLD/NASH e malattie infettive, sotto il profilo eziopatogenetico la NAFLD è una patologia complessa e multifattoriale, le cui insorgenza e severità sono condizionate da una combinazione di fattori genetici e ambientali. Da un lato essa è considerata l'espressione epatica della sindrome metabolica (obesità viscerale, intolleranza glucidica e diabete mellito tipo 2, dislipidemia e ipertensione), dall'altro la NAFLD ha un ruolo primario, parallelo e indipendente, nell'insorgenza della sindrome metabolica e nello sviluppo delle sue complicanze.

In questo opuscolo di evidenze sulla NAFLD/NASH si spiega chiaramente che la prevalenza di NAFLD e NASH varia sensibilmente in base alla selezione dei pazienti e alle metodiche diagnostiche utilizzate. La NAFLD è una delle epatopatie più insidiose a causa della mancanza di marcatori non invasivi, soprattutto per la NASH. Non è al momento chiaro se la prevalenza di NAFLD nella popolazione HIV possa essere uguale o superiore rispetto alla popolazione generale. D'altro canto alcune evidenze suggeriscono che la NASH possa essere maggiormente prevalente nella popolazione HIV positiva. Multipli meccanismi possono essere invocati per giustificare il maggior grado di fibrosi in HIV. La traslocazione microbica può rappresentare uno stimolo per lo sviluppo di NASH, promuovendo l'infiammazione e incrementando la permeabilità della barriera intestinale a prodotti batterici ed endotossine, che hanno come primo organo bersaglio il fegato. L'HIV stesso può rappresentare una causa diretta di steatosi, oltre al contributo della terapia antiretrovirale. Obesità e diabete mellito, oltre a dislipidemia e sindrome metabolica ampiamente rappresentate nella popola-

zione con infezione da HIV, sono cause note di NAFLD primaria. Obiettivo del percorso diagnostico è l'identificazione, tra gli individui con NAFLD, dei pazienti affetti da NASH.

Come discusso, l'inquadramento di un paziente con steatosi epatica non deve mai tralasciare l'indagine anamnestica sull'uso di farmaci, in quanto diverse categorie di farmaci possono causare steatosi epatica secondaria (tra questi, amiodarone, antiretrovirali, metotrexato, tamoxifene, corticosteroidi, valproato). L'utilizzo di farmaci potenzialmente steatogeni deve essere valutato e considerato in base al rapporto rischio/beneficio. Il paziente che ne richiede l'uso deve essere sottoposto a monitoraggio biochimico ed ecografico per sviluppo/aggravamento di steatosi epatica.

La scoperta e validazione di marcatori non invasivi sia di NAFLD che di NASH e la definizione di una terapia specifica per la NASH, rappresentano una priorità. In assenza di marcatori diagnostici validati, gli score predittivi di fibrosi hanno recentemente assunto una rilevanza clinica, soprattutto nella discriminazione delle forme più avanzate.

La gestione dei pazienti con NAFLD consiste fondamentalmente nel trattare la patologia epatica e le comorbidità associate (obesità, dislipidemia, diabete). Appare quindi evidente che l'identificazione precoce del paziente portatore di NAFLD, consigliare un adeguato stile di vita, valutare la contemporanea presenza di alterazioni metaboliche che determinano aumentato rischio cardiovascolare, sospettare la presenza di NASH. La stadiazione del danno d'organo, l'inquadramento generale del paziente ed un precoce intervento personalizzato di terapia e/o monitoraggio sono azioni essenziali per la cura ottimale di questi soggetti.

La prima linea di terapia, raccomandabile in tutti i pazienti con NAFLD e anche finalizzata al contenimento del rischio cardiovascolare, è non-farmacologica. Particolare rilievo è dato al calo ponderale, perseguibile attraverso la modificazione dello

stile di vita (incremento dell'attività motoria e variazione delle abitudini alimentari). Premesso che non esistono al momento farmaci specifici per il trattamento della NAFLD, alcune molecole farmacologiche, comunemente utilizzate e registrate per altre indicazioni, hanno dimostrato effetti benefici nei pazienti con NAFLD/NASH. Il panorama terapeutico si sta rapidamente arricchendo di nuove molecole, elencati dettagliatamente in questo opuscolo. Tali nuove molecole sono in diverse fasi di sviluppo del farmaco, di cui una parte è in una fase avanzata della sperimentazione multicentrica internazionale a lungo termine, per dimostrarne un effettivo beneficio in termini di efficacia e di sicurezza.

LA STEATOSI EPATICA - È UNA VERA ENTITÀ CLINICA?

Massimo Galli

*Clinica delle Malattie Infettive, DIBIC L. Sacco,
Università degli Studi di Milano - Presidente SIMIT*

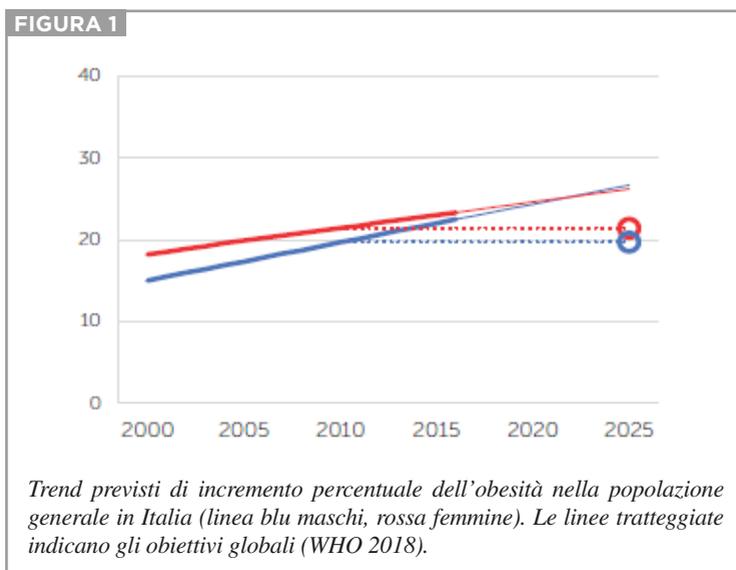
La steatosi epatica non alcolica (NALFD) è divenuta, a fronte dei dati epidemiologici emersi, un argomento clinico di primario interesse, così come, in parallelo, la definizione di metodiche diagnostiche che ne favoriscano l'identificazione e la classificazione. Nel contesto della NAFLD si colloca infatti una condizione, la steatoepatite non alcolica (NASH) che interviene, secondo la definizione dell'Associazione americana per lo studio delle malattie del fegato (AASLD), se la steatosi epatica raggiunge o supera il 5% ed è accompagnata da infiammazione e danno agli epatociti. La NASH può determinare un'evoluzione in franca cirrosi e causare carcinoma epatocellulare (HCC). Obesità, dislipidemia, insulino-resistenza, alimentazione scorretta e sedentarietà sono risultate strettamente associate al moltiplicarsi dei casi di NAFLD, con l'obesità ad occupare una posizione predominante.

Secondo i dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, nel 2016 il 39% della popolazione adulta mondiale e il 18% dei bambini e degli adolescenti con meno di 19 anni era da ritenersi sovrappeso. In Italia, nello stesso anno, risultavano obesi il 23% degli adulti e il 10% dei bambini ed adolescenti. Una situazione che, per quanto migliore di quella di altri paesi della parte industrializzata del mondo, è comunque foriera di preoccupazione in un paese come il nostro, in cui il 45% degli adulti non svol-

ge regolare attività fisica. Attualmente, nei paesi occidentali, la NASH si avvia a diventare la malattia epatica più comune - in parallelo con l'eliminazione dei casi di epatite cronica C consentita dai farmaci antivirali ad azione diretta - e in prospettiva la principale causa di HCC e di trapianto di fegato. L'incidenza di HCC in associazione con NASH è infatti in forte aumento, con un tasso superiore rispetto alle patologie epatiche di qualsiasi altra eziologia.

Gli studi sulla prevalenza della NAFLD risentono di numerosi variabili che giustificano le differenze osservate nelle diverse parti del mondo. In una meta-analisi di 86 studi, che ha permesso di considerare un campione cumulativo di ben 8.515.431 persone di 22 diversi paesi, la stima della prevalenza globale della NAFLD è risultata del 25%, con un intervallo di confidenza del 95% compreso tra il 22 e il 29%. I tassi più alti sono stati segnalati negli studi attuati in Medio Oriente (32%) e in Sud America (31%), seguiti da quelli realizzati in Asia (27%), Stati Uniti (25,8%) ed Europa (23%). La prevalenza della NASH è stimata tra l'1,5% e il 6% e sale al 59,1% (95% IC: 55,16-94,28) nei casi sottoposti a biopsia epatica per NAFLD, cioè in quelli in cui la presenza di una NASH aveva ragione di essere sospettata sulla base dei dati strumentali o di laboratorio. Tra le condizioni favorevoli vanno considerati fattori genetici ed ambientali - che danno conto delle differenze geografiche e di quelle riscontrate nelle diverse etnie - l'età - nella maggior parte dei casi la diagnosi di NAFLD viene posta tra il quarto e il quinto decennio di vita - e il genere. I primi studi hanno infatti rilevato una netta maggior frequenza della NAFLD nel sesso femminile. Più recentemente uno studio basato sul National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III ha evidenziato che la distribuzione per genere varia per fascia d'età. Il rapporto più basso tra le prevalenze nei maschi rispetto alle femmine (0,94) è stata osservata nella fascia d'età con meno di 30 anni, il più alto (1,31) in quella tra 40 e 49. Un'analisi basata

sui dati di NHANES III conduce a stimare l'incidenza globale di NAFLD nel 2015 negli USA in circa 3,44 milioni di casi. È stato anche stimato che l'incidenza possa diminuire di oltre il 30% nel prossimo decennio, come riflesso della diminuzione dell'incidenza complessiva dell'obesità. Ammesso che questo accada - i trend dell'incidenza di obesità previsti per l'Italia permangono in aumento (Figura 1) - la prevalenza della NAFLD è in continuo incremento per l'accumularsi dei casi incidenti sui prevalenti non risolti, e con essa quella della NASH. Nei soli USA, i casi di NAFLD nel 2015 sono stati stimati in 83,1 milioni, con una prevalenza tra la popolazione di età maggiore di 15 anni del 30,0% e globale del 25,8%. Entro il 2030, è stato previsto un incremento dei casi del 21% e della prevalenza nella popolazione di più di 15 anni fino al 33,5%. L'età media delle persone con NAFLD, stimata nel 2015 in 50 anni, andrebbe ad aumentare a 55. Ne deriverebbero un aumento dei casi preva-



lenti di NASH del 63% (da 16,5 a 27 milioni), del 168% dei casi di cirrosi scompensata (da 39.230 casi all'anno nel 2015 a 105.430 casi in 2030), del 137% dell'HCC e del 178% dei decessi per causa epatica. Per quanto riguarda l'Italia, la stima delle persone con NAFLD viventi nel paese nel 2016 è di 15,2 milioni e la proiezione per il 2030 fa prevedere un incremento fino a 17,4 milioni, con una prevalenza del 29,5%, che sarebbe a quel punto la più alta d'Europa.

Numeri sconcertanti per la loro ampiezza, che prospettano scenari allarmanti. Il cui contenimento è possibile, in linea di teoria, con interventi che non richiedono la somministrazione di farmaci. La prima linea di terapia della NAFLD consiste infatti nel perdere peso e modificare gli stili di vita. Niente di più semplice, quindi, ma anche niente di più difficile da ottenere, almeno in un gran numero di casi. Cambiare abitudini inalterate, in particolare per quanto riguarda l'alimentazione e gli stili di vita, risulta spesso molto difficile, se non impossibile. Non deve quindi stupire l'interesse dimostrato da ricercatori e dall'industria per l'identificazione di nuovi target farmacologici che permettano lo sviluppo di terapie innovative per la NASH. Un aumento di interesse che è testimoniato dall'aumento esponenziale di pubblicazioni su questo tema e dal numero importante di farmaci che hanno raggiunto la fase due e la fase tre di sperimentazione. È verosimile che alcuni di questi possano trovare uno spazio e un ruolo importante, in particolare nel trattamento delle NASH avanzate, la cui rapida reversione o il cui contenimento non risultasse ottenibile con la sola dieta. Vanno infine ricordate le condizioni in cui la steatosi epatica venga indotta, sostenuta o complicata dalla somministrazione cronica di farmaci irrinunciabili. È il caso ad esempio del metotrexate, ma anche di alcuni farmaci antiepilettici o antiretrovirali. Un motivo, quest'ultimo, più che sufficiente a motivare l'attenzione degli infettivologi sulle strategie di identificazione precoce, contenimento e cura della NASH.

BLOGRAFIA

- Estes C, Anstee QM, Arias-Loste MT, et al. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016-2030. *J Hepatol.* 2018; 69: 896-904.
- Estes C, Razavi H, Loomba R, et al. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. *Hepatology.* 2018; 67: 123-133.
- Day CP. The potential role of genes in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis.* 2004; 8: 673-691.
- Leite NC, Salles GF, Araujo AL, et al. Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus. *Liver Int.* 2009; 29: 113-119.
- Liu A, Galoosian A, Kaswala D, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: Epidemiology, liver transplantation trends and outcomes, and risk of recurrent disease in the graft. *J Clin Transl Hepatol.* 2018; 6: 420-424.
- Loomba R, Abraham M, Unalp A, et al. Association between diabetes, family history of diabetes, and risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Hepatology.* 2012; 56: 943-951.
- Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013; 10: 686-690.
- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, et al. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA.* 2014; 311: 806-814.
- Pais R, Barritt AS 4th, Calmus Y, et al. NAFLD and liver transplantation: Current burden and expected challenges. *J Hepatol.* 2016; 65: 1245-1257.
- Pan JJ, Fallon MB. Gender and racial differences in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol.* 2014; 6: 274-283.
- Pappachan JM, Babu S, Krishnan B, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A clinical update. *J Clin Transl Hepatol.* 2017; 5: 384-393.
- Parikh ND, Marrero WJ, Wang J, et al. Projected increase in obesity and non-alcoholic-steatohepatitis-related liver transplantation wait list additions in the United States. *Hepatology.* 2017. doi: 10.1002/hep.29473.
- Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA.* 2015; 313: 2263-2273.

- VanWagner LB, Armstrong MJ. Lean NAFLD: a not so benign condition? *Hepato Comm*. 2018; 2: 5-8.
- Younes R, Bugianesi E. Should we undertake surveillance for HCC in patients with NAFLD? *J Hepatol*. 2018; 68: 326-334.
- Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016; 64: 73-84.
- Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011; 9: 524-530.

FISIOPATOLOGIA DELLA NAFLD-NASH E MALATTIE INFETTIVE

Gloria Taliani¹, Loreta A. Kondili²

¹Sapienza Università di Roma; ²Istituto Superiore di Sanità

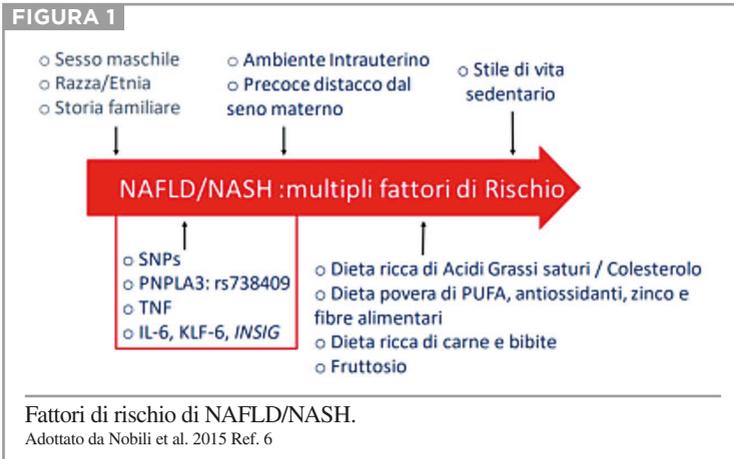
La steatosi epatica non alcolica (Non Alcoholic Fatty Liver Disease-NAFLD) è la malattia cronica di fegato emergente più diffusa nei paesi Occidentali. Il progressivo cambiamento dello stile di vita, la sedentarietà, l'eccesso di peso e l'abitudine alimentare al consumo di grassi e zuccheri, ne ha influenzato in modo importante l'epidemiologia. Sotto il profilo eziopatogenetico, la steatosi epatica non alcolica (NAFLD) è una patologia complessa e multifattoriale, la cui insorgenza e severità sono condizionate da una combinazione di fattori genetici e ambientali, con una crescita della frequenza nella popolazione generale e con tassi di prevalenza elevati nelle persone con diabete e/o obesità.

La NAFLD è considerata da una parte l'espressione epatica della sindrome metabolica (obesità viscerale, intolleranza glucidi-

COMPONENTI DELLA SINDROME METABOLICA

1. Circonferenza addominale >90 cm in uomini, >80 cm in donne (per l'etnia caucasica).
2. Pressione arteriosa >130/85 mmHg o terapia anti-ipertensiva in atto.
3. Glicemia basale >100 mg/dl o Diabete Melito di Tipo 2 in trattamento.
4. Trigliceridemia >150 mg/dl.
5. Colesterolo HDL <40mg/dl negli uomini, <50 mg/dl nelle donne o in coloro che assumono la terapia ipolipemizzante

FIGURA 1



CONDIZIONI ACCERTATE A MAGGIOR RISCHIO DI NAFLD (prevalenza compresa tra 60 ed 85%): (AISF Ref 7)

- obesità
 - diabete di tipo 2
 - dislipidemia pro-aterogena (ipertrigliceridemia, bassi livelli di HDL)
 - sindrome metabolica
- Esistono inoltre condizioni in cui l'associazione con la NAFLD sembra non essere casuale:
- sindrome dell'ovaio policistico
 - ipotiroidismo
 - sindrome delle apnee notturne
 - ipopituitarismo
 - ipogonadismo
 - resezione pancreatico-duodenale
 - psoriasi
- Secondaria ad alcune patologie apparentemente non correlate:
- l'epatite C, prevalentemente da genotipo 3;
 - la malattia di Wilson;
 - l'uso di farmaci quali amiodarone, antiretrovirali, corticosteroidi, metotrexate, tamoxifene, valproato;
 - l'uso di nutrizione parenterale;
 - la preesistenza di patologie infiammatorie intestinali.
- Alcune caratteristiche demografiche o genetiche sembrano condizionarne la comparsa, come l'avanzare dell'età, la menopausa nel sesso femminile o l'appartenenza al sottogruppo di popolazione dei nativi Americani.

ca e diabete mellito tipo 2, dislipidemia e ipertensione), dall'altra ne è dimostrato il ruolo primario, parallelo e indipendente, nell'insorgenza della sindrome metabolica e nello sviluppo delle sue complicanze (1-5).

In *figura 1* sono riportati i principali fattori di rischio della NAFLD/NASH che si sviluppa prevalentemente in pazienti con obesità, dislipidemia e intolleranza al glucosio.

L'IMPORTANZA CLINICA DELLA NAFLD

La sindrome metabolica è una condizione clinica caratterizzata da un'elevata morbilità e mortalità per malattie cardiovascolari. La frequenza con la quale la sindrome metabolica è presente in pazienti con NAFLD supera il 40%, e pertanto questo comporta che una larga quota di pazienti con NAFLD abbia un aumentato rischio di malattie cardiovascolari e di diabete. L'importanza clinica della NAFLD è inoltre legata all'effetto indipendente del danno cardiovascolare, che si aggiunge a quello del dismetabolismo stesso.

L'associazione tra NAFLD e vasculopatia carotidea precoce ed avanzata è risultata indipendente dal controllo glicemico, dall'uso dei farmaci e dalla presenza di sindrome metabolica. Esistono numerose evidenze, basate su studi prospettici condotti sulla popolazione generale, a favore di una correlazione patogenetica tra NAFLD e aterosclerosi. Lo spettro delle complicanze cardiovascolari associate alla NAFLD comprende inoltre ipertrofia del ventricolo sinistro con disfunzione ventricolare sinistra e conseguente scompenso cardiaco congestizio ed aumentato rischio di aritmie. In presenza di vasculopatia e diabete, è da tenere presente anche un'aumentato rischio di insufficienza renale cronica.

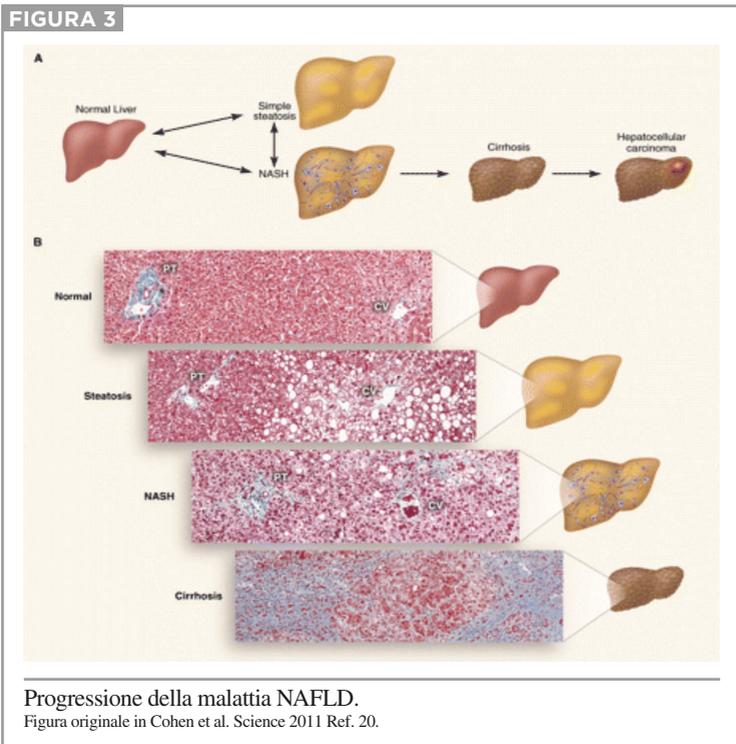
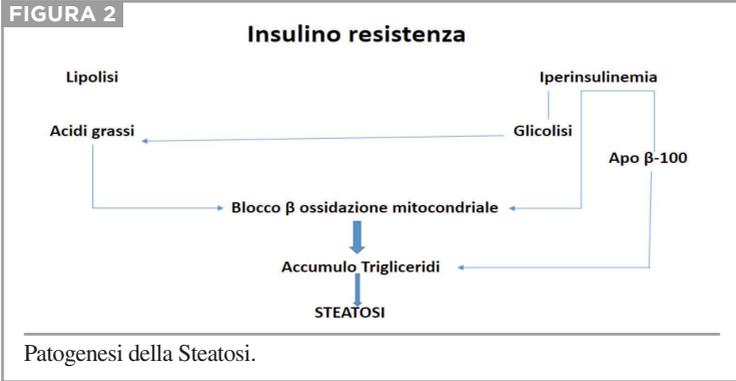
La NAFLD sembra essere associata ad un rischio aumentato di neoplasia, non solo a livello epatico. Infine, la presenza di steatosi rappresenta di per sé un fattore aggiuntivo di sofferen-

za epatica in pazienti con epatopatie acute o croniche di altra eziologia, condizionandone l'evoluzione e spesso interferendo con i trattamenti. In presenza di epatite virale cronica da HBV o HCV, per esempio, la contemporanea presenza di NAFLD è un elemento favorente una evoluzione più rapida della malattia e la persistente progressione del danno nonostante l'eradicazione o la soppressione della replicazione virale mediante terapia farmacologica (7-13).

LA STORIA NATURALE E FISIOPATOLOGIA DELLA NAFLD

La storia naturale della NAFLD è ancora oggi poco conosciuta. Alcuni studi riportano dati riferiti a pazienti seguiti presso centri specialistici, ma la epidemiologia della NAFLD in popolazione generale non è del tutto nota. In alcuni individui l'accumulo di lipidi si associa a danno epatocellulare, infiammazione ed attivazione della fibrogenesi (NASH: nonalcoholic steatohepatitis), con possibile progressione verso cirrosi ed epatocarcinoma.

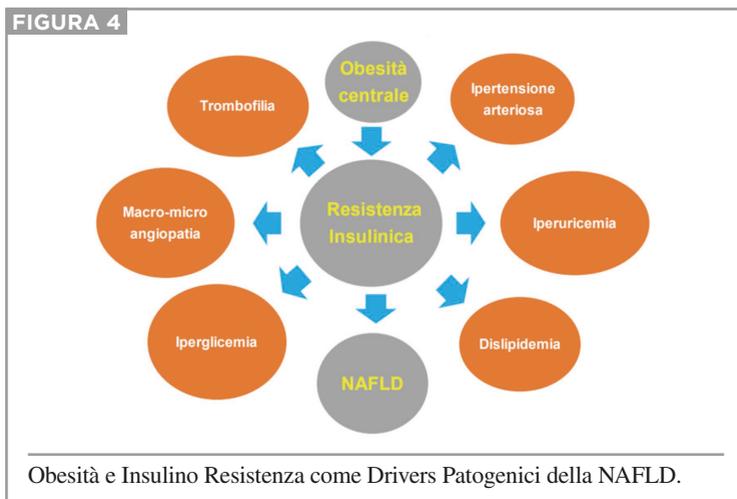
La malattia si presenta con un ampio spettro di alterazioni istologiche che vanno da una semplice steatosi alla comparsa di steato-epatite (NASH), caratterizzata dalla presenza di fibrosi e di infiammazione. La steatosi semplice (Non Alcoholic Fatty Liver-NAFL) è dovuta a un accumulo di trigliceridi nel fegato ed è considerata una condizione benigna che non comporta aggravamento e progressione della malattia. L'accumulo di grasso epatico origina principalmente da uno squilibrio tra afflusso di acidi grassi al fegato e capacità del fegato di esportarli per una ridotta sintesi di lipoproteine a densità molto bassa (VLDL, very low density lipoprotein) e un'umentata sintesi epatica di trigliceridi (probabilmente per una ridotta ossidazione degli acidi grassi o un aumento degli acidi grassi liberi che vengono portati al fegato) (*Figura 2*).



In NAFLD le alterazioni istologiche epatiche sono caratterizzate da un iperaccumulo di grasso intraepatocitario (steatosi, consistente in un accumulo cellulare di trigliceridi >5%) in assenza di consumo alcolico significativo (inferiore di 20 g/die nella donna, e di 30 g/die nell'uomo) e di cause secondarie di epatopatia.

La steatosi semplice non presenta un rischio di progressione in cirrosi, invece circa 10-15% delle persone con NAFLD presenta aspetti istologici di necroinfiammazione e degenerazione balloniforme caratterizzanti la non-alcoholic steatohepatitis (NASH). La NASH ha una possibile evoluzione in fibrosi, cirrosi e relative complicanze, incluso l'epatocarcinoma (HCC) (Figura 3). L'infiammazione può essere provocata dal danno causato alle membrane cellulari dalla perossidazione lipidica. Queste modificazioni possono stimolare le cellule stellate del fegato causando la fibrosi (14-19).

L'insulino-resistenza, e lo stress ossidativo, sono principali drivers della patogenesi della NAFLD (Figura 4). Sulla base della



teoria della progressione sequenziale del danno epatico dei “two hits” di James e Day (Ref), si ritiene che l’aumentata resistenza insulinica sia alla base delle prime fasi della steatosi epatica, principalmente attraverso un’aumentata mobilizzazione di acidi grassi dal tessuto adiposo viscerale al fegato, che facilita l’accumulo del grasso. Un secondo evento, legato allo stress ossidativo, causa la progressione del danno attraverso l’attivazione di processi infiammatori che contribuiscono all’instaurarsi e la progressione della fibrosi (20).

Tuttavia, si discute molto se l’insulino-resistenza e la conseguente iperinsulinemia siano una possibile causa di steatosi o se sia la NAFLD stessa a promuovere una condizione di iperinsulinemia come risultato di una sua rallentata degradazione.

L’aumentato stress ossidativo sembra invece costituire uno dei principali fattori nella promozione del danno epatico nella NAFLD, svolgendo un ruolo fondamentale sulla progressione dalla steatosi semplice alla NASH. Lo stress ossidativo provoca una aumentata perossidazione lipidica, infiammazione, e aumentata fibrogenesi conseguente all’attivazione delle cellule stellate. Inoltre, i radicali liberi dell’ossigeno (ROS) inibiscono la secrezione epatica delle VLDL favorendo una ulteriore accumulo intraepatico di lipidi.

Più recentemente, è stata proposta una ipotesi “multiple hits” ossia più fattori che possono incidere sul danno epatico in parallelo e che accanto all’insulino-resistenza e allo stress ossidativo possono essere identificati come possibili fattori patogenetici nello sviluppo della NAFLD. L’infiammazione cronica, specifiche mutazioni genetiche ed epigenetiche e fattori di derivazione dal microbiota intestinale possono essere variamente associati con la NAFLD come diversi tipi di insulti (multiple parallel hits) in presenza o in assenza della sindrome metabolica (21).

Nel modello dei *multiple parallel hits*, il microbiota sembra avere un ruolo determinante nella progressione del danno epatico. L’intestino contiene un’ampia popolazione batterica, di-

**FATTORI COINVOLTI NELLA PATOGENESI
DEL NASH-IPOTESI: MULTIPLE PARALLEL HITS**

- severità dell'insulino-resistenza e della steatosi con induzione delle vie lipolitiche;
- sviluppo di stress ossidativo e danno mitocondriale;
- alterazioni del microbiota e della permeabilità intestinale;
- stato pro-infiammatorio sistemico secondario al rilascio di adipochine e citochine, come conseguenza della disfunzione del tessuto adiposo viscerale;
- varianti ereditarie in grado di influenzare il metabolismo lipidico epatico, la risposta infiammatoria ed il processo di fibrosi.

namica e responsiva alle alterazioni ambientali, quali dieta e l'assunzione di antibiotici. L'alterazione del normale equilibrio del microbiota ossia la disbiosi contribuisce ad alterazioni metaboliche che determinano alcune caratteristiche tipiche della NAFLD/NASH. La disbiosi spesso si associa ad una relativa riduzione della variabilità del microbiota ed è stata associata ad un aumento dell'insulino-resistenza, della dislipidemia e della infiammazione cronica di basso grado. La correlazione tra disbiosi e NAFLD/NASH è stata ben documentata negli studi di base, tuttavia i dati sull'uomo sono a volte contrastanti. La traslocazione batterica conseguente all'alterazione della permeabilità intestinale esercita una funzione principalmente sul fegato, mediata dal rilascio di citochine infiammatorie nella circolazione portale. Nell'uomo sono stati identificati vari profili microbici che sono stati associati alla NASH, come ad esempio l'incremento di *Proteobatteri*, ed *Enterobatteri*. Uno squilibrio nell'abbondanza relativa di alcune specie, in particolare *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, promuove un alterato pattern di uptake energetico con effetti sul metabolismo dell'ospite, favorente di uno stato di insulino-resistenza, e contribuente di uno stato di infiammazione generalizzata. Un profilo particolare del microbiota è stato associato alla NASH nei pazienti non obesi in maniera indipendente dall'introito calorico. La dimostrazione che la modulazione della flora intestinale con antibiotici non assorbibili possa avere un effetto anche sui parametri clinici di danno

epatico in corso di NASH rappresenta un'ulteriore dimostrazione della correlazione tra microbiota e NASH. È stato osservato come *Bacteroides* e *Ruminococcus* sono maggiormente presenti in pazienti con fibrosi significativa (fibrosi F >2), mentre i *Proteobatteri* sono più frequentemente osservati nelle forme avanzate di fibrosi del fegato. La predominanza dei Gram negativi sembra essere specificamente correlata ad un profilo pro-infiammatorio dei pazienti con cirrosi e HCC correlata a NAFLD. La modulazione della composizione della flora batterica è un oggetto di studio in quanto la comprensione dei meccanismi del danno epatico potrebbe favorire lo sviluppo di potenziali biomarcatori della malattia nonché di potenziali terapie (22-27).

I progressi nel campo della genetica sono derivati da studi di associazione genome-wide (GWAS genome-wide association study) che hanno identificato dei poliformismi associati alla NAFLD.

Il gene PNPLA3 (patatin-like phospholipase domain-containing), localizzato sul cromosoma 22, è stato identificato quale fattore genetico principale di NAFLD, indipendente da insulino-resistenza e massa corporea. La variante determinante una sostituzione aminoacidica isoleucina-metionina sul codone 148 (I148M) del gene *PNPLA3*, è stata identificata come il principale fattore ereditario di NAFLD. Questa variante del gene *PNPLA3*, è associata a un incrementato contenuto epatico di trigliceridi e ha una distribuzione inter-etnica corrispondente alle diverse prevalenze di NAFLD osservate in diverse etnie (maggiore per l'etnia ispanica, inferiore per quella africana). In presenza di insulino resistenza i portatori di questa comune mutazione non riescono ad eliminare trigliceridi dalle gocce lipidiche, per accumulo della proteina disfunzionale, inoltre sono a rischio aumentato di NASH, fibrosi e tumore epatico. Studi specifici hanno confermato un ruolo preminente di *PNPLA3* nel determinare la severità della steatoepatite e dell'evoluzione fibrotica e nel rischio di HCC. Pertanto, la determinazione della

mutazione I148M è stata proposta per stratificare il rischio di NASH e di epatocarcinoma. Inoltre, la proteina PNPLA3 potrebbe rappresentare un nuovo bersaglio terapeutico. L'identificazione della variante genetica del gene PNPLA3 ha permesso inoltre il riconoscimento di un fenotipo di PNPLA3-NAFLD, caratterizzato da un accumulo di grasso epatico in assenza di alterazioni metaboliche, soprattutto in persone magre. L'identificazione della variante genetica del gene PNPLA3 ha delle importanti conseguenze in termini di una prospettiva screening attraverso test genetici per la selezione di soggetti a rischio di malattia più avanzata e HCC e inoltre potrebbe aiutare a personalizzare la gestione clinica dei pazienti per prevenirne le complicanze epatiche (28-32).

EPATITE C E NASH/NAFLD

Per comprendere i rapporti stretti tra HCV e NASH/NAFLD, bisogna fare alcune necessarie premesse sulla biologia del virus. L'assemblaggio delle particelle virali è innescato dall'attività della proteina core che si lega all'RNA per formare il nucleocapside a cui si uniscono le proteine E1 ed E2 a formare la particella virale nascente che protrude dal reticolo endoplasmico (33). In definitiva, la proteina core di HCV inibisce le attività della microsomal triglyceride transfer protein (MTP) espressa nel fegato addetta al trasferimento dei lipidi producendo un accumulo di molecole lipidiche all'interno degli epatociti. La probabilità di sviluppare la steatosi e la relativa intensità sono regolate da una individuale predisposizione legata marginalmente al polimorfismo del gene MTP (34). Ma anche nei pazienti con infezioni da genotipi diversi dal 3 si può verificare lo sviluppo di steatosi, su una base più strettamente metabolica in cui il virus gioca un ruolo attraverso la promozione di stress ossidativo, resistenza insulinica, progressione verso il diabete di tipo 2. È quindi prevedibile che nei pazienti infettati dal

genotipo 3 che eradicano l'infezione, si osservi una riduzione della steatosi, mentre molto meno costante è l'evoluzione della steatosi epatica nelle infezioni da altri genotipi. In particolare, l'eradicazione con farmaci ad azione antivirale diretta provoca un innalzamento dei livelli di colesterolo totale e LDL e questo cambiamento metabolico entra dinamicamente in connessione con l'evoluzione della steatosi. In particolare, misurando la steatosi con metodica elastografica con CAP, il valore CAP ottenuto a 24 settimane dalla fine del trattamento antivirale è inversamente correlato con il valore basale. In altri termini, pazienti con steatosi modesta prima della terapia mostrano un incremento dell'accumulo di lipidi intraepatici con l'eradicazione del virus mentre i pazienti con valori più elevati al basale, sperimentano una riduzione (35).

Nella nostra esperienza, nei soggetti che eliminano spontaneamente il virus, prevalentemente donne con profilo CC di IL28B, dopo la guarigione esiste una correlazione tra parametri metabolici e BMI e la presenza di steatosi, senza alcuna correlazione evidente con il polimorfismo dell'IL28B (36).

Dunque si conferma l'osservazione che i pazienti con elevato BMI presentano un peggioramento costante della loro steatosi dopo la guarigione dall'infezione. Sono dunque proprio questi i pazienti nei quali esercitare un controllo prospettico più insistente ai fini del riconoscimento di potenziali rischi aterosclerotici e cardio-cerebro vascolari e con l'intento di esercitare una modificazione virtuosa delle abitudini alimentari e dello stile di vita (37).

HIV E NASH/NAFLD

L'impatto della morbidità legata alla malattia di fegato nei pazienti con infezione da HIV resta un tema rilevante, nonostante la terapia antiretrovirale e quella delle epatiti virali abbiano conquistato risultati straordinari negli ultimi anni. Resta in

crescita il ruolo della steatosi non alcolica, che mantiene una incontrastata prevalenza tutt'altro che trascurabile che varia tra il 30% e il 100% dei pazienti, con un delta che può essere in larga parte ascrivito alla metodologia di valutazione della steatosi come riportato da vari studi nella *Tabella 1*.

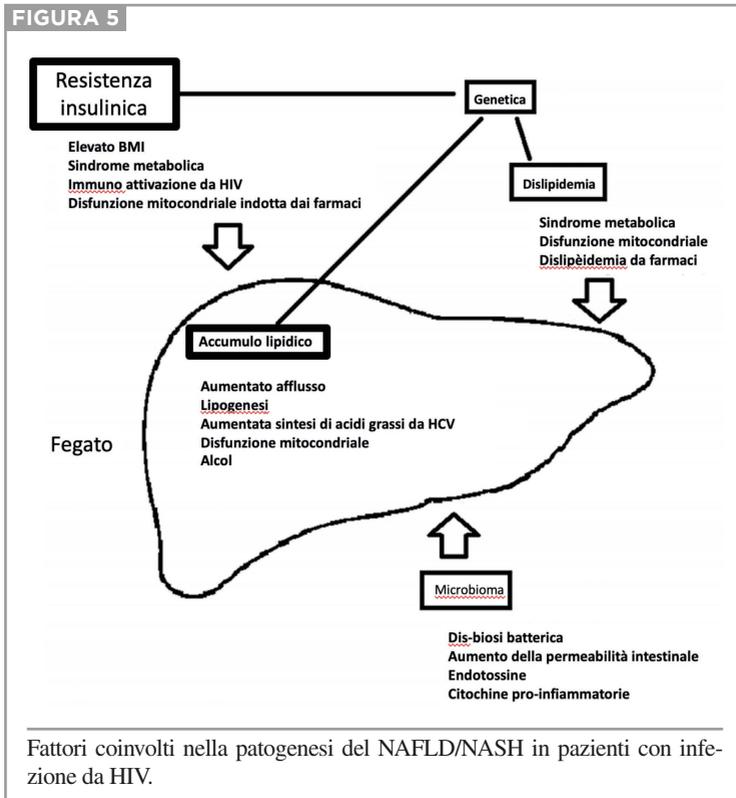
Nei pazienti con HIV, come nella popolazione generale, la NAFLD è associata con un aumento della circonferenza addominale, con livelli bassi di HDL, livelli elevati di trigliceridi e documentabile resistenza insulinica. È accertato che lo stato di infiammazione cronica, l'aumento dell'espressione tissutale di citochine infiammatorie, l'aumento della lipogenesi e l'accelerazione della lipolisi nel tessuto adiposo e nel fegato rappresentano altrettanti fattori predisponenti nei confronti dell'accumulo di grasso nelle cellule epatiche. A questo profilo di rischio, si aggiunge il potenziale impatto di fattori metabolici legati alla terapia antiretrovirale o al virus stesso. Il tema della

TABELLA 1 - Prevalenza e fattori associati con la steatosi epatica nell'infezione da HIV.

Prevalence and factors associated with fatty liver in HIV infection					
Reference	N. Patients	Diagnosis	% HIV/HCV coinfection	Fatty Liver	Factors associated to steatosis
Solkowski MS, AIDS 2005; 19: 585-92	112	Biopsy	100	40	Caucasian race, weight >86 Kg, hyperglycemia, d4T
Mc Govern BH. CID 2006; 43: 365-72	183	Biopsy	100	69	Use of DDI or d4T, HCV Gt 3
Bani-Sadr F. AIDS 2006; 20: 525-31	395	Biopsy	100	61	BMI , HCV-Gt3 , HCV VL, fibrosis, ferritin
Gaslightwala I. J Hepatol 2006; 44: 1026-32	154	Biopsy	100	72	TG, ART for > 4 years
Castera L. APT 2007; 26: 1489-98	137	Biopsy	100	67	Infl. activity
Neau D. JAIDS 2007; 45: 168-73	148	Biopsy	100	67	BMI , HCV-Gt3 , infl activity
Rodriguez-Torres M. J Hepatol 2008; 48: 756-64	283	Biopsy	100	23	HCV-Gt 3 , HDL, hip circumference, infl activity , ALT, HCV-VL, FPG
Sterling RH. Hepatol. 2008; 47: 1118-27	222	Biopsy	100	23	BMI , T2DM, HCV-Gt3
Ryan P. HIV Med 2009; 10: 53-9	225	US	40	12	BMI , alcohol, HIV VL, HCV VL
Crum Cianfrone M. JAIDS 2009;50:464-73	216	US/Biopsy	Excluded	31	WC, TG, HDL
Guaraldi G. CID 2008;47:250-7	225	CT	Excluded	37	WC, ALT/AST ratio, male sex, NRTI
Price JC. Amj Gastroenterol 2014;109:695-704	465	CT	12	13	VAT, HOMA, ddX, ALT, PNPLA3
Macias J. AIDS 2014; 28: 1279-87	505	CAP	32	40	BMI
Vuille-Lessard E LB. AIDS 2016; 30: 2635-43	300	CAP	48	48	BMI and ALT

interconnessione tra steatosi e terapia antiretrovirale è di particolare interesse: l'associazione tra terapia HART e NAFLD/NASH sembra essere negativa in alcuni studi, mentre è più diffusamente accettato che l'uso di didanosina/ddI, stavudina/d4T e zalcitabina/ddC possano promuovere l'instaurarsi di tossicità mitocondriale, acidosi lattica e steatosi (38-41).

Inoltre nei pazienti HIV, per effetto dell'immuno attivazione, l'insulino resistenza è una condizione altamente prevalente, fino al 35% (42). Livelli elevati di marcatori pro-infiammatori



- e.g. TNF alpha and IL-6 - sono frequentemente rilevati in pazienti con HIV, ma non è chiaro se in questi anche la presenza di marcatori quali il CD14 solubile e l'espansione del sottotipo T linfocitario CD8+/HLA-DR+ possa contribuire all'induzione di resistenza insulinica. Ciò che appare chiaro è invece che esiste un legame inscindibile tra immuno-attivazione, resistenza insulinica e lo sviluppo di steatosi (43).

In definitiva, nei pazienti HIV positivi si instaura una condizione patogenetica tale che ogni meccanismo potenzialmente steatogeno rinforza l'altro creando una sorta di andamento metabolico di natura semi-circolare (*Figura 5*). È quindi della massima importanza avere in mente la ricerca della condizione steatosica in tutti i pazienti per procedere quanto più intensamente possibile alla revisione e correzione delle abitudini di vita ed alimentari, che rappresenta il provvedimento basale per la gestione non farmacologica della steatosi in ogni malato.

ALTRI AGENTI INFETTIVI E NASH/NAFLD

Esistono evidenze che legano anche altri agenti infettivi ad un rischio incrementato di sviluppare NASH o NAFLD. Tra questi certamente spicca l'*Helicobacter pylori*, responsabile di molti disordini dell'apparato gastro-intestinale e per il quale, di recente, è stata documentata la capacità di indurre steatosi epatica (44).

I meccanismi patogenetici sono molteplici. Certamente la condizione infiammatoria cronica che il patogeno è in grado di indurre nel corso dell'infezione cronica anche in questo caso contribuisce ad indurre resistenza insulinica e successivamente steatosi (45). Inoltre, nei pazienti con infezione cronica da *Helicobacter pylori* sono state dimostrate turbe ormonali che portano ad una alterazione metabolica, di nuovo centrale all'induzione di resistenza insulinica e steatosi (46).

Certo è che l'eradicazione del germe, dopo appropriata terapia, determina la modificazione favorevole del profilo lipogenico con incremento della componente HDL, la riduzione della resistenza insulinica, della leptina, delle citochine proinfiammatorie ed un impatto favorevole sul rischio steatogenico e aterogenico. L'eradicazione di *H pylori* è pertanto raccomandabile anche per eliminare questi rischi (47).

Una interessante componente steatogenica, forse non ancora sufficientemente valorizzata, potrebbe essere rappresentata dal dismicrobismo intestinale che si determina in seguito a numerose infezioni o dalla risposta ad infezioni croniche o ricorrenti provocate da numerosi patogeni.

Talvolta i microrganismi causano un danno sostanziale delle cellule e questo processo genera il rilascio di molecole potenzialmente tossiche. Nel quadro di una infezione cronica o di infezioni ricorrenti, l'attenzione si è recentemente incentrata sul ruolo di un nuovo gruppo di complessi proteici definiti DAMPs (danger associated molecular patterns) che possono attivare l'inflammasoma con conseguente innesco di processi capaci di portare grandi rivolgimenti nell'equilibrio normalmente orchestrato in condizione di integrità anatomica e funzionale degli apparati (48).

Nell'intestino l'inflammasoma svolge un ruolo importante nel mediare la difesa contro le infezioni e mantenere l'omeostasi tissutale anche dopo l'innesco della risposta infiammatoria. Dunque si può facilmente immaginare che le implicazioni di questa regolazione integrata di vari sistemi ed apparati possa essere maggiore di quanto non abbiamo finora immaginato.

In conclusione, la NASH/NAFLD è una condizione morbosa complessa, con una patogenesi in parte genetica ed in larga misura epigenetica. La sua storia naturale è piuttosto imprevedibile con una sostanziale variabilità inter-individuale in termini di esito e con una struttura impegnativa in termini di diagnosi e stratificazione dei fattori di rischio.

Le infezioni, principalmente quelle croniche, ma anche le terapie anti-infettive possono rappresentare un innesco non trascurabile verso lo sviluppo e la progressione della NASH/NAFLD. Di tutto questo certamente parleremo ancora per numerosi anni a venire.

BIBLIOGRAFIA

1. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* **002**; 346: 1221-1231.
2. Hu FB. Globalization of diabetes: the role of diet, lifestyle, and genes. *Diabetes Care.* 2011; 34: 1249-1257.
3. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology.* 2008; 48: 792-798.
4. Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *The New England Journal of Medicine.* 2017; 377: 13-27.
5. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018: 11-20.
6. Nobili V, Alkhoury N, Alisi A, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Challenge for Pediatricians. *JAMA Pediatrics.* 2015; 169: 170-176.
7. Associazione Italiana per lo Studio del Fegato Steatosi Epatica Non Alcolica (NAFLD) Raccomandazioni per un modello di gestione condivisa tra medico di medicina generale e specialista epatologo. Disponibile in https://www.webaisf.org/wp-content/uploads/2019/02/naflid_1_aprile_2016-1.pdf
8. Targher G, Marchesini G, Byrne CD. Risk of type 2 diabetes in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Causal association or epiphenomenon? *Diabetes Metab.* 2016; 42: 142-156.
9. Ballestri S, Zona S, Targher G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome. Evidence from a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016; 31: 936-944.

10. Ampuero J, Gallego-Duran R, Romero-Gomez M. Association of NAFLD with subclinical atherosclerosis and coronary-artery disease: meta-analysis. *Rev Esp Enferm Dig.* 2015; 107: 10-16.
11. Targher G, Byrne CD, Lonardo A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: A meta-analysis. *J Hepatol.* 2016; 65: 589-600.
12. Francque SM, van der Graaff D, Kwanten W. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk: Pathophysiological mechanisms and implications *Journal of Hepatology* 2016, 65: 425-443.
13. Ratziu V, Giral P, Charlottee F, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000; 118: 1117-1123.
14. Younossi ZM, Blissett D, Blissett R, et al. The Economic and Clinical Burden of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the United States and Europe *Hepatology* 2016; 64: 1577-1586.
15. Kleiner DA, Brunt ME, Van Natta M, et al. Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology.* 2005; 41: 1313-1321.
16. Cohen JC, Horton JD, Hobbs H. Human Fatty Liver Disease: Old Questions and New Insights. *Science.* 2011; 332: 1519-1523.
17. Singh S, Allen AM, Wang Z, et al. Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver vs Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Paired-Biopsy Studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015; 13: 643-645.
18. Sunny NE, Parks EJ, Browning JD, Burgess SC. Excessive Hepatic Mitochondrial TCA Cycle and Gluconeogenesis in Humans with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cell Metab.* 2011; 14: 804-810.
19. Lomonaco R, Ortiz-Lopez C, Orsak B, et al. Effect of Adipose Tissue Insulin Resistance on Metabolic Parameters and Liver Histology in Obese Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology.* 2012; 55: 1389-1397.
20. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two “hits”? *Gastroenterology.* 1998; 114: 842-845.
21. Tilg H, Moschen AR. Evolution of Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Multiple Parallel Hits Hypothesis. *Hepatology.* 2010; 52: 1836-1846.
22. Miele L, Gasbarrini A, Grieco A. Steatoepatite non alcolica, una pato-

- logia che nasce dall'intestino? Disponibile in <https://www.readfiles.it/download/ReAdFiles2019/03.pdf>
23. Soderborg TK, Clark SE, Mulligan CEJ, et al. The gut microbiota in infants of obese mothers increases inflammation and susceptibility to NAFLD. *Nat Commun.* 2018; 9: 4462.
 24. Sanduzzi Zamparelli M, Compare D, et al. The Metabolic Role of Gut Microbiota in the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci.* 2016; 17: 1225.
 25. Miele L, Valenza V, La Torre G, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2009; 49: 1877-1887.
 26. Jayakumar S, Loomba R. Review article: emerging role of the gut microbiome in the progression of nonalcoholic fatty liver disease and potential therapeutic implications. *Aliment Pharmacol Ther.* 2019; 50: 144-158.
 27. Mehal WZ. The Gordian Knot of dysbiosis, obesity and NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013; 10: 637-644.
 28. Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat Rev Genet.* 2005; 6: 109-118.
 29. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008; 40: 1461-1465.
 30. Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, et al. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010; 51: 1209-1217.
 31. Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, et al. NASH CRN. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010; 52: 894-903.
 32. Liu YL, Patman GL, Leathart JBS, et al. Carriage of the PNP-LA3 rs738409 C >G Polymorphism Confers an Increased Risk of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Associated Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatol.* 2014; 61: 75-81.
 33. Crouchet E, Baumert TF, Schuster C et al. Hepatitis C Virus-Apoli-

- poprotein Interactions: Molecular Mechanisms and Clinical Impact Expert Review of Proteomics. 2017; 14: 593-606.
34. Akgöllü E, Akkız H. Association between hepatic steatosis and MTP gene -493G/T polymorphism in the patients with HCV genotype 1 infection. *Infect Genet Evol.* 2019; 70: 101-106.
 35. Ogasawara N, Kobayashi M, Akuta N, et al. Serial changes in liver stiffness and controlled attenuation parameter following direct-acting antiviral therapy against hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol.* 2018; 90: 313-319.
 36. Taliani G, Spaziante M, Biliotti E, et al. IL28B gene polymorphisms and US liver fatty changes in patients who spontaneously cleared hepatitis C virus infection. *PLoS One.* 2013; 8: e67301.
 37. Meissner EG, Lee YJ, Osinusi A, et al. Effect of sofosbuvir and ribavirin treatment on peripheral and hepatic lipid metabolism in chronic hepatitis C virus, genotype 1-infected patients. *Hepatology.* 2015; 61: 790-801.
 38. Guaraldi G, Squillace N, Stentarelli C, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in HIV-infected patients referred to a metabolic clinic: prevalence, characteristics, and predictors. *Clin Infect Dis.* 2008; 47: 250-257.
 39. Lui G, Wong VW-S, Wong GL-H, et al. Liver fibrosis and fatty liver in Asian HIV-infected patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016; 44: 411-421.
 40. Nishijima T, Gatanaga H, Shimbo T, et al. Traditional but not HIV related factors are associated with nonalcoholic fatty liver disease in Asian patients with HIV-1 infection. *PLoS One.* 2014; 9: e87596.
 41. Vuille-Lessard E, Lebouche B, Lennox L, et al. Nonalcoholic fatty liver disease diagnosed by transient elastography with controlled attenuation parameter in unselected HIV monoinfected patients. *AIDS.* 2016; 30: 2635-2643.
 42. Gutierrez AD, Balasubramanyam A. Dysregulation of glucose metabolism in HIV patients: epidemiology, mechanisms, and management. *Endocrine.* 2012; 41: 1-10.
 43. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006; 444: 860-867.
 44. Li M, Shen Z, Li YM. Potential role of *Helicobacter pylori* infection

- in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2013; 19: 7024-7031.
45. Eshraghian A, Hashemi SA, Hamidian Jahromi A, et al. *Helicobacter pylori* infection as a risk factor for insulin resistance. *Dig Dis Sci.* 2009; 54: 1966-1970.
46. Buzás GM. Metabolic consequences of *Helicobacter pylori* infection and eradication. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 5226-5234.
47. Abdel-Razik A, Mousa N, Shabana W, et al. *Helicobacter pylori* and non-alcoholic fatty liver disease: A new enigma? *Helicobacter.* 2018; 23: e12537.
48. Kanak MA, Shindo Y, SaiKumar P, Naziruddin B. Role of Inflammasomes in the Development of Gastrointestinal Diseases. *Exp* 2018; 108: (Suppl.) 235-268.

NAFLD-NASH ED HIV: EPIDEMIOLOGIA E DIAGNOSTICA D'IMMAGINE

Laura Maiocchi, Carlo Filice

*Struttura di Diagnostica Ecografica in Malattie Infettive
e Tropicali IRCCS Policlinico San Matteo,
Università degli Studi di Pavia*

EPIDEMIOLOGIA

Per NAFLD (Non alcoholic fatty liver disease) si intende l'intero spettro delle malattie caratterizzate da un accumulo di grasso a livello epatico, associato alla presenza di insulino-resistenza (IR) e definito dalla presenza di steatosi in più del 5% degli epatociti all'esame istologica o da una frazione di grasso maggiore del 5,6% alla risonanza magnetica spettroscopica protonica (HMRS) o all'imaging quantitativo selettivo di risonanza magnetica per grasso/acqua (MRI).

LA NAFLD comprende due distinte patologie, con due differenti prognosi: il semplice "fegato grasso" o NAFL (Non alcoholic fatty liver), in cui si ha un accumulo di grasso $\geq 5\%$ a livello epatico in assenza di danno epatocellulare e in assenza di altre cause di fegato grasso, e la steatoepatite o NASH (Non alcoholic steatohepatitis), di cui si parla quando si è in presenza di un accumulo di grasso $\geq 5\%$ a livello epatico, associata ad un quadro infiammatorio con un danno degli epatociti (degenerazione balloniforme) con o senza fibrosi, fino alla cirrosi epatica. È importante sottolineare che la diagnosi di NAFLD richiede l'esclusione di un consumo giornaliero di alcol ≥ 30 g per gli

uomini e ≥ 20 g per le donne; un consumo di alcool sopra questi limiti indica una malattia epatica alcolica.

La diagnosi di NASH si effettua mediante l'esecuzione della biopsia epatica e il successivo riscontro all'esame istologico di steatosi epatica, degenerazione balloniforme e infiammazione lobulare. Alla diagnosi di NASH si associa una prognosi peggiore con un aumentato rischio di progressione della fibrosi epatica, dell'evoluzione in cirrosi e dello sviluppo di epatocarcinoma.

Negli ultimi due decenni è ormai diventato chiaro che la NAFLD rappresenta la prima causa di malattie epatiche nel mondo e la sua distribuzione è strettamente correlata all'obesità e al diabete.

L'obesità mondiale è quasi triplicata dal 1975. Nel 2016, oltre 1,9 miliardi di adulti erano in sovrappeso; di questi oltre 650 milioni erano obesi. Si stima che nel 2016 inoltre 41 milioni di bambini sotto i 5 fossero in sovrappeso o obesi nel 2016; oltre 340 milioni di bambini e adolescenti di età compresa tra 5 e 19 anni erano in sovrappeso o obesi nel 2016 e i numeri sono in continua crescita. Circa 6.000.000 individui negli Stati Uniti sono affetti da NASH e di questi il 10% ha una cirrosi NASH correlata. Per ragioni non ben note la NAFL è più frequente negli uomini che nelle donne. Benchè i dati sull'incidenza non siano precisi (a causa della difficoltà di ottenere una precisa diagnosi), si stima che l'attuale incidenza della NAFL sia di circa 20 su 10.000 persone/anno, con un picco nella sesta decade della vita.

La prevalenza della NAFL si è raddoppiata negli ultimi 20 anni e il dato allarmante è che è in aumento a livello mondiale, mentre quella delle altre patologie epatiche è rimasta stabile o in alcuni casi è addirittura diminuita. La prevalenza della NAFL si aggira intorno al 30-40% negli uomini e al 15-20% nelle donne ed è ancora più alta nei pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2, raggiungendo il 70% in questa popolazione.

La prevalenza della NAFL negli Stati Uniti si aggira intorno al 10-30% con dati analoghi in Europa e Asia.

Una metanalisi, pubblicata su *Hepatology* nel 2016, su 8.515.431 pazienti, ha confermato che circa il 25% della popolazione adulta mondiale ha una NAFLD, con tassi di prevalenza più elevati nell'America del Sud (31%) e nel Middle East (32%) rispetto a quanto riscontrato in Africa, dove i tassi sono più bassi (14%). I dati della metanalisi confermano inoltre dati simili di prevalenza tra gli Stati Uniti e l'Europa.

I dati di incidenza della NASH sono limitati, essendo il gold standard per la diagnosi di NASH la biopsia epatica, la cui esecuzione è limitata essenzialmente dalla natura invasiva della procedura. Dati relativi alla prevalenza della NASH ci dicono invece che quest'ultima è stimata intorno al 59,1% nei pazienti affetti da NAFL, che si sono sottoposti a biopsia epatica per indicazioni cliniche; nei pazienti invece affetti da NAFL, sottoposti a biopsia epatica in assenza di particolari indicazioni cliniche, la prevalenza si aggira intorno al 6-7%. La stima infine della prevalenza della NASH nella popolazione generale si aggira intorno al 1,5-6,45%.

Nella popolazione pediatrica, in cui la NAFL può essere causata sia da fattori genetici che da una maggiore sensibilità nei confronti dei fattori ambientali, la stima della prevalenza presenta le stesse difficoltà incontrate nella popolazione adulta. Il dato allarmante è tuttavia che la presenza di NAFL già nell'infanzia sembra essere un fattore di rischio per precoci o gravi complicanze e che si inizia a parlare di NAFL in bambini di solo 2 anni e di cirrosi NASH-relata in bambini di soli 8 anni. Una recente metanalisi ha dimostrato che la prevalenza della NAFLD nei bambini si aggira intorno al 7,6% nella popolazione generale e arriva fino al 34,2% in studi su popolazioni pediatriche affette da obesità. La stessa metanalisi conferma una prevalenza più alta nei maschi rispetto alle femmine. In un programma di screening condotto su una popolazione di 347 bambini in so-

vrappeso o obesi, in cui la presenza di NAFLD è stata supposta in base al riscontro di ipertransaminasemia, la NAFLD è stata diagnosticata nel 55% dei bambini esaminati. Di questi circa il 18% presentava un danno epatico e l'epatite autoimmune rappresentava la diagnosi alternativa di più frequente riscontro. Si registrava inoltre un quadro di fibrosi avanzata in circa l'11% dei bambini con NAFLD.

In Italia, la prevalenza della NAFLD si aggira intorno al 20-25%. Le Linee guida per la pratica clinica per la gestione della NAFLD dell'Associazione europea per lo studio del fegato (EASL), l'Associazione europea per lo studio del diabete (EASD) e l'Associazione europea per lo studio dell'obesità (EASO) hanno recentemente rivisto e aggiornato la definizione di diagnosi del fegato grasso che dovrebbe essere utilizzata anche per la diagnosi di NAFLD o NASH in soggetti HIV positivi, nei quali, rispetto alla popolazione HIV negativa, sembra che la patologia sia più grave e che la prevalenza di NASH sia più elevata.

Nella popolazione HIV positiva la malattia epatica rappresenta una delle principali cause di morbilità e mortalità tra i pazienti. La malattia epatica è causa del 13% dei decessi nella raccolta di dati sugli eventi avversi da farmaci anti-HIV tra il 1999-2011, rendendo la malattia del fegato la seconda causa di morte non-AIDS correlata in questa coorte. Benché una delle principali cause di malattie epatiche tra i pazienti HIV positivi sia il virus dell'epatite C (HCV), i trattamenti HCV attualmente a disposizione con i nuovi DAA (direct-acting antiviral) sono sicuri ed efficaci nei pazienti con coinfezione HIV-HCV e quindi l'impatto clinico dell'HCV è destinato a diminuire nei prossimi decenni.

Al contrario morbilità e mortalità legate alla NAFLD nella popolazione HIV positiva, come nella popolazione generale, dovrebbero continuare ad aumentare. La prevalenza della NAFLD nei pazienti HIV positivi è scarsamente caratterizzata e diversi notevolmente nel tempo, il che per molti versi riflette le varie epoche del trattamento dell'HIV. Nell'era pre-ART, la NAFLD

poteva essere presente nell'85% dei pazienti con HIV e all'epoca veniva associata a malnutrizione e infezioni opportunistiche. All'inizio dell'era ART, fino al 60% dei pazienti con HIV aveva una NAFLD e ulteriori studi riportavano gravi danni epatici indotti da farmaci con steatosi microvascolare.

Nella moderna era ART, nonostante la minor epatotossicità dei nuovi farmaci antiretrovirali, la prevalenza della NAFLD rimane elevata e nei pazienti HIV positivi si stima che la percentuale possa variare dal 13% al 55% benché la maggior parte dei dati presenti in letteratura si basino su metodiche di immagine non invasive e pochissima letteratura prende in considerazione la valutazione istologica della NASH e della fibrosi.

Sebbene i dati siano in qualche modo conflittuali, gli studi hanno dimostrato che molti fattori di rischio per la NAFLD nella popolazione generale - come il sovrappeso, l'obesità, l'insulino-resistenza e l'ipertrigliceridemia, tutti componenti della sindrome metabolica - sono fattori di rischio anche nei pazienti con HIV.

Gli indici viro-immunologici e le caratteristiche specifiche della ART non sembrano, secondo i dati riportati in letteratura, essere predittori indipendenti della NAFLD nell'era della moderna ART.

La prevalenza di NAFLD potrebbe essere ancora più alta nei pazienti con coinfezione da HIV-HCV, con dati che variano dal 23% al 72%. I pazienti con co-infezione da HIV-HCV sono stati studiati meglio di quelli con infezione mono HIV a causa del più frequente uso della biopsia epatica e tra questi pazienti, i più forti fattori di rischio individuati per la presenza di steatosi sembrano essere i fattori legati alla sindrome metabolica e il genotipo 3 di HCV.

Si stima che la steatosi sia più comune tra i pazienti con coinfezione da HIV-HCV rispetto ai pazienti monoinfetti HCV, verosimilmente per l'importante ruolo svolto da HIV nella patogenesi della steatosi. Inoltre, la presenza di steatosi potrebbe

essere associata a fibrosi più avanzata tra i pazienti con coinfezione da HIV-HCV rispetto ai pazienti monoinfetti HCV per un possibile effetto sinergico di NAFLD e HCV sulla fibrogenesi epatica in pazienti con co-infezione. Di fatto, la NAFLD rappresenta la causa più probabile di epatite cronica nei pazienti monoinfetti HIV.

DIAGNOSTICA D'IMMAGINE

La diagnosi di NAFL è molto spesso occasionale. Può essere inizialmente sospettata in seguito a riscontro accidentale di ipertransaminasemia, in tal caso è mandatorio escludere altre cause di malattia epatica, con esami ematochimici, virologici e strumentali e, tra questi ultimi, le metodiche di immagine sono spesso chiamate in causa per confermare la diagnosi di NAFL. L'iperferritinemia è un riscontro comune in caso di NAFL e correla positivamente con il rischio di progressione della malattia epatica. La presenza della mutazione nel gene HFE ha una frequenza variabile nei pazienti con NAFL e il suo significato clinico è poco chiaro. Frequente è il riscontro di anticorpi anti muscolo e antinucleo a basso titolo.

Fino ad oggi la biopsia epatica ha rappresentato il “gold standard” per la diagnosi di NASH, nonostante i suoi noti limiti: limiti di campionamento, il fatto che sia una metodica invasiva e quindi non sempre ben accettata dal paziente (per altro, in caso di NAFL nella maggior parte dei casi asintomatico, e quindi meno incline ad accettare una manovra non priva di rischi, dato ancora più importante nella popolazione pediatrica) e, non da ultimo, per i suoi costi. Per tali limiti la biopsia epatica non è utilizzabile a scopo di screening anche in pazienti ad elevato rischio di progressione della malattia.

Tra le metodiche non invasive l'ecografia rappresenta la metodica d'immagine più utilizzata, poiché più facilmente reperibile e più economica della RM. I limiti dell'ecografia sono rappre-

sentati dalla variabilità inter-operatore, dalla limitata sensibilità e quindi dalla sua ridotta capacità di diagnosticare la steatosi se inferiore al 20% o nei pazienti con Body Mass Index (BMI) >40 kg/m² (pazienti obesi).

L'ecografia epatica rappresenta tuttavia la prima linea diagnostica per la valutazione della steatosi epatica, essendo una metodica più diffusa e più economica dell'attuale gold standard rappresentato dalla risonanza magnetica PDFFF (proton density fat fraction). La valutazione ecografica della steatosi epatica può utilizzare:

- la valutazione dell'indice epatorenale o Sonographic Hepato-Renal Index (SHRI) (Figura 1).
- l'esecuzione di scansioni per la valutazione ecografica classica della steatosi epatica, che prendono in considerazione

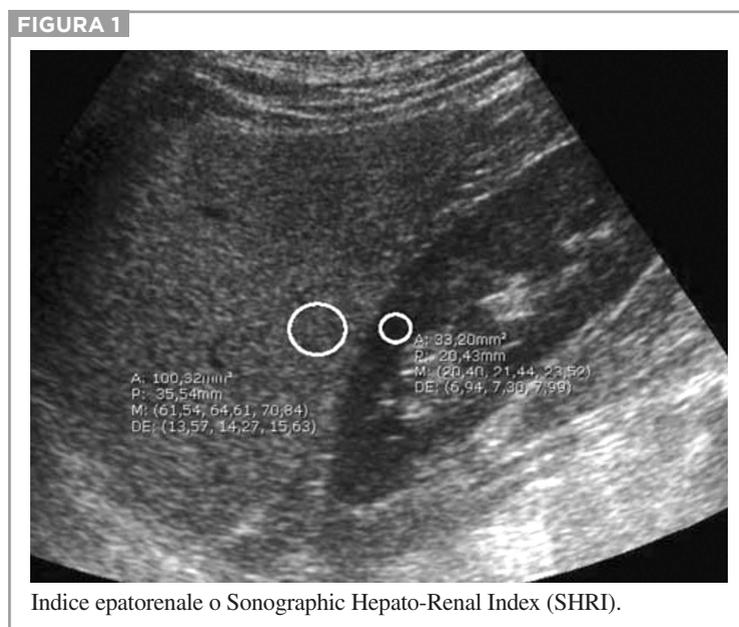


FIGURA 2



Steatosi epatico di Grado 1.

parametri quali l'ecogenicità del parenchima epatico, l'attenuazione degli echi in profondità, la visualizzazione delle vene sovraepatiche, la visualizzazione della capsula e del diaframma. Questo consente di classificare la steatosi in steatosi epatica di:

Grado 1 (lieve) - Leggero aumento dell'ecogenicità del parenchima epatico con visualizzazione normale del diaframma e dei bordi dei vasi intraepatici (*Figura 2*).

Grado 2 (moderato) - Moderato aumento diffuso degli echi fini con visualizzazione leggermente alterata dei vasi intraepatici e del diaframma (*Figura 3*).

Grado 3 (severo) - Marcato aumento degli echi fini con visualizzazione scarsa o assente dei bordi dei vasi intraepatici, del diaframma e della porzione posteriore del lobo destro del fegato (*Figura 4*).

- una valutazione più complessa ma con una sensibilità maggiore è infine rappresentata dallo score di Hamaguchi, che

FIGURA 3



Steatosi epatica di Grado 2.

FIGURA 4



Steatosi epatica di Grado 3.

valutando una serie di parametri ecografici e assegnando ad essi un valore numerico, consente di calcolare uno score che, se ≥ 2 consente di far diagnosi di steatosi epatica (Figura 5).

Nell'ambito di una sindrome metabolica, della nota correlazione tra lo spessore medio intimale e il rischio di sviluppare eventi cardiovascolari l'ecografia trova, inoltre applicazione anche nella misurazione dello spessore medio-intimale (IMT o intima-media thickness). L'esame prevede la valutazione dell'IMT a livello della parete posteriore della arteria carotide comune (ACC) ad 1 cm dalla sua biforcazione, in un segmento di circa 1 cm, prendendo la misura sulla parete posteriore in almeno 2-3 proiezioni e segnalando il valore minimo e massimo (Figure 6-8).

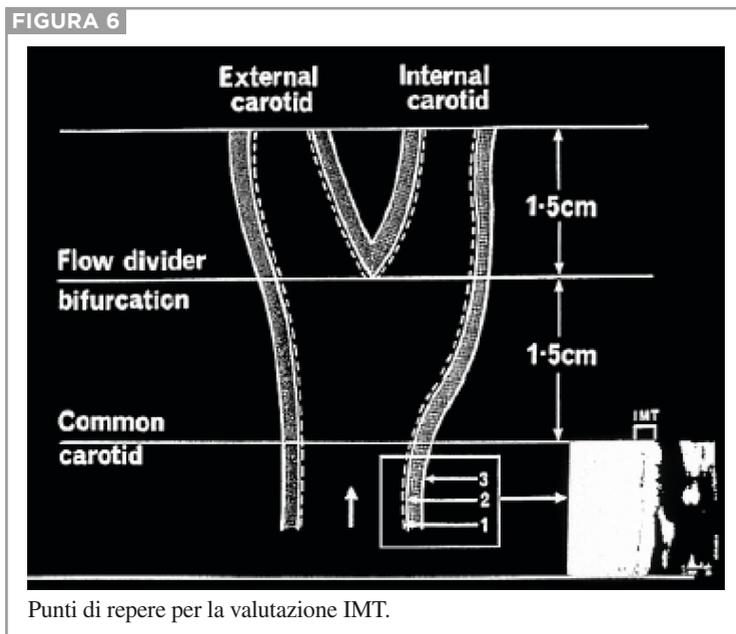
La TAC, la Spettroscopia di RM e la RM con la misura della "proton density fat fraction" sono un eccellente metodo per la quantificazione della NAFLD, per cui potrebbero essere con-

FIGURA 5

<p>A. Bright liver and hepatorenal echo contrast</p> <p>0: Bright liver and hepatorenal echo contrast were negative</p> <p>1: Either bright liver was positive or hepatorenal echo contrast was positive.</p> <p>2: Bright liver was mild, and hepatorenal echo contrast was positive.</p> <p>3: Bright liver was severe, and hepatorenal echo contrast was positive.</p>	<p>Score of A</p> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin: 0 auto;"></div>
<p>B. Deep attenuation</p> <p>0: Deep attenuation was negative.</p> <p>1: Visualization of the diaphragm was obscure, but a observer could distinguish the diaphragm.</p> <p>2: A observer couldn't distinguish the diaphragm.</p>	<p>Score of B</p> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin: 0 auto;"></div>
<p>C. Vessel blurring</p> <p>0: Vessel blurring was negative.</p> <p>1: The borders of intrahepatic vessels were unclear and the lumen of intrahepatic vessels was narrowed.</p>	<p>Score of C</p> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin: 0 auto;"></div>

<p>Sum score of A, B, and C, if score of A is more than one. Total score is 0, if score of A is zero.</p>	<p>Total score</p> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin: 0 auto;"></div>

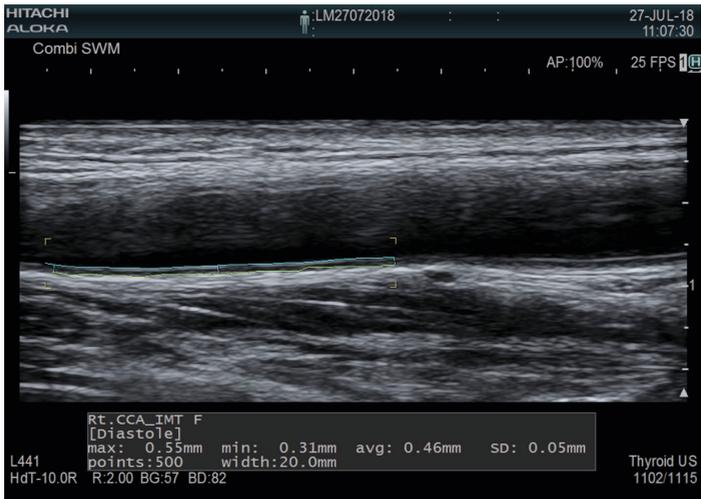
Hamaguchi score.



siderate come primo step diagnostico. La TAC ha una buona performance diagnostica; tuttavia ha diverse limitazioni, inclusa l'esposizione alle radiazioni ionizzanti. Inoltre, la tecnica ha una scarsa precisione in presenza di altre malattie epatiche diffuse sottostanti, che possono alterare i valori di attenuazione del fegato.

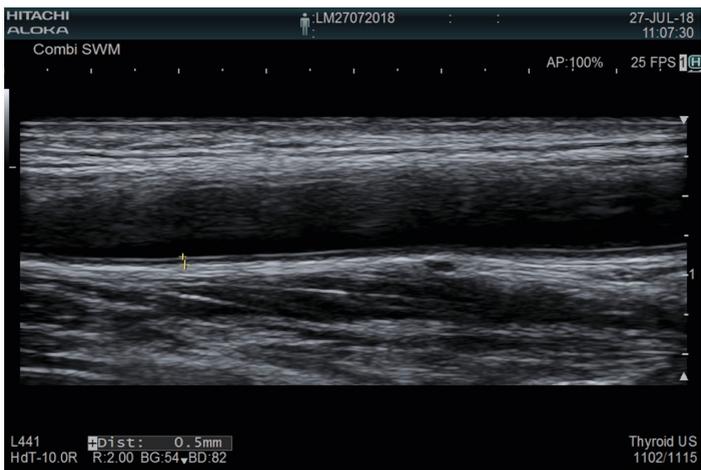
L'imaging RM è un metodo che quantifica accuratamente il contenuto di grassi epatici ed è stato proposto come alternativa alla valutazione istologica della steatosi epatica in pazienti con NAFLD. Non è influenzato da fattori di confusione, incluso il peso corporeo, ed è indipendente dall'operatore. La spettroscopia di risonanza magnetica 1H (1H-MRS) offre una buona riproducibilità ed è considerata il metodo non invasivo ottimale per diagnosticare la steatosi epatica. Può avere limitazioni di

FIGURA 7



Esempio di valutazione di IMT.

FIGURA 8

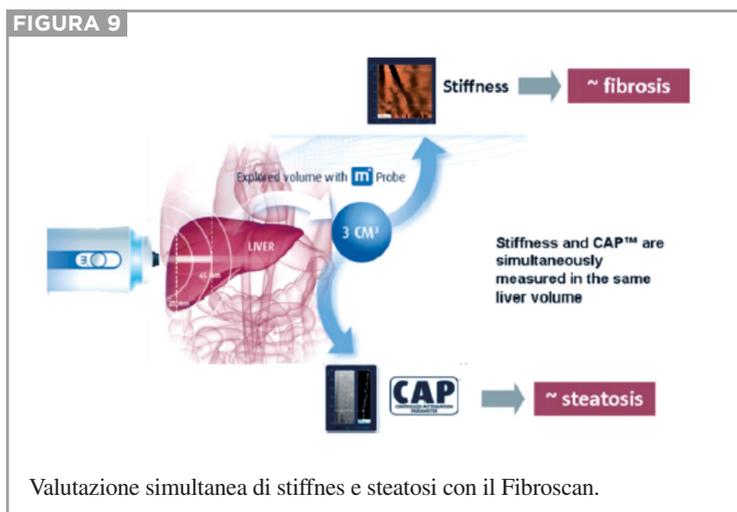


Esempio di valutazione di IMT.

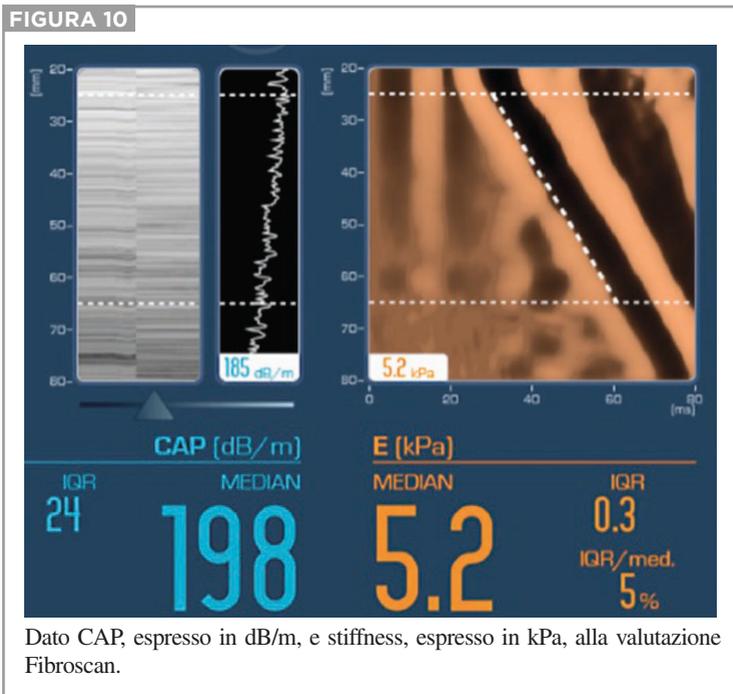
applicabilità dovute a claustrofobia, protesi metalliche o pacemaker o incapacità di sospendere la respirazione per l'acquisizione di immagini.

Limiti della TC e della RM sono inoltre la reperibilità e i costi. Tra le metodiche diagnostiche per la valutazione della fibrosi epatica in pazienti con NAFLD trova applicazione la Transient Elastography (TE), che come dimostrato dalla letteratura è più attendibile nel fare diagnosi di cirrosi epatica che di fibrosi avanzata. Per quanto riguarda le altre metodiche elastosonografiche non sono disponibili ancora sufficienti dati in letteratura per il loro utilizzo in ambito clinico. Alcuni dati suggeriscono tuttavia che l'utilizzo dell'elastosonografia in associazione ai marcatori biumorali dia risultati migliori rispetto all'utilizzo dell'elastosonografia da sola.

Da qualche anno inoltre la TE (Transient Elastography) trova applicazione nella quantificazione della steatosi epatica, grazie all'implementazione di un parametro definito CAP (controlled



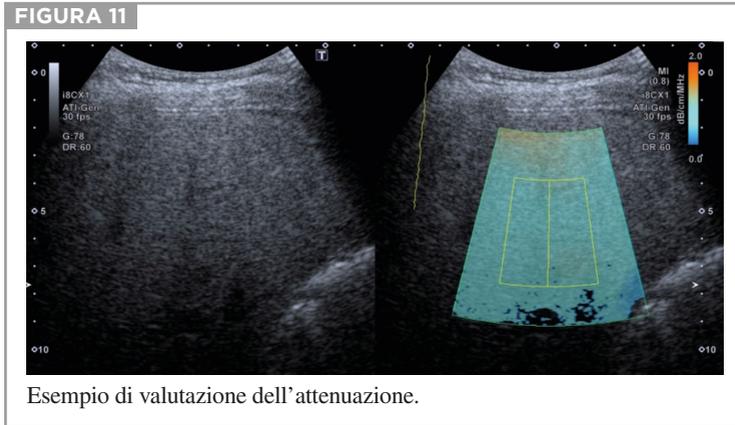
attenuation parameter), che è in grado di quantificare il grasso accumulato all'interno del fegato. Si tratta di una metodica non-invasiva per la quantificazione della steatosi, che si basa sul principio che la presenza di grasso sia in grado di influenzare la propagazione degli ultrasuoni. Il CAP misura il grado di steatosi epatica utilizzando un procedimento sofisticato basato sulla Vibration Controlled Transient Elastography (VCTE). Il CAP viene calcolato direttamente dal Fibroscan, contestualmente alla valutazione della stiffness epatica, nello stesso volume di fegato. L'esame consente di calcolare il valore mediano di 10 misure valide, ottenute attraverso gli spazi intercostali (*Figure 9 e 10*).



In uno studio recente, eseguito su più di 300 bambini, valutati per la presenza di steatosi, il CAP ha dimostrato una performance migliore e una recente metanalisi, che ha permesso di valutare più di 2700 pazienti, ha mostrato come il CAP sia in grado di fornire una valutazione standardizzata non invasiva della steatosi epatica, stabilendo cut-off pari a 248, 268 e 280 dB/m per valori di steatosi >S0, >S1 e >S2 rispettivamente (S0: steatosi <5%; S1: 5-33%; S2: 34%-66%).

Sempre nell'ambito della diagnostica non invasiva, inoltre, va aggiunto che a fronte dei risultati molto accurati già ottenuti utilizzando la metodica CAP, sono in corso ulteriori ricerche che prevedono l'utilizzo di specifici software per la valutazione quali-quantitativa della steatosi epatica con apparecchi ecografici di ultima generazione. Questi nuovi software, ancora in fase prototipale, si basano sulla considerazione che la presenza di steatosi rallenta la propagazione degli ultrasuoni e sulla possibilità di valutare correttamente il diverso grado di viscosità determinato dalla presenza di infiltrazione grassa nel parenchima epatico. Ad oggi, tuttavia, nessuna di queste metodiche è stata sufficientemente validata sul piano clinico anche se, presso il nostro Centro, una specifica analisi statistica dei risultati ottenuti prevalentemente in una popolazione adulta utilizzando questi software, evidenzia dei dati molto promettenti che consentono una precisa valutazione clinica della steatosi con elevata accuratezza diagnostica. Tale possibilità appare di grande rilevanza sul piano clinico ed apre nuove ed interessanti prospettive ai fini di una diagnosi precoce della NAFLD anche in campo pediatrico, dove la necessità di utilizzare delle metodiche non invasive riveste un ruolo di primaria importanza (*Figura 11*).

In aggiunta alle metodiche strumentali negli ultimi anni si sono sviluppati una serie di score metabolici, più facilmente utilizzabili per screening di larga scala, che, grazie all'utilizzo di semplici parametri bioumorali, sono in grado di quantificare il rischio di progressione della malattia epatica, come ad esem-



pio il Fatty Liver Index (FLI), lo Steato Test e il NAFLD liver fat score, tutti validati nella popolazione generale e in pazienti obesi di grado 3 e in grado di predire gli *outcome* e la mortalità per problemi metabolici, epatici e cardiovascolari. Questi score sono associati all'insulino resistenza e predicono in modo affidabile la presenza di steatosi, non la sua severità. Infine il NAFLD fibrosis score (NFS) e il FIB-4 sono stati ampiamente validati in diversi target di popolazione affetta da NAFLD con risultati consistenti.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson EL, et al. The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015; 10.
- Blachier M, et al. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol*. 2013; 58: 593-608.
- Browning JD, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004; 40: 1387-1395.
- Byrne CD, et al. NAFLD: a multisystem disease; *J Hepatol*. 2015; 62 (1 Suppl.): S47-64.

- Chalasani N, et al. The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases *Hepatology*. 2018; 67: 328-357.
- Chalasani N, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*. 2012; 55: 2005-2023.
- Chan WK, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in diabetics - prevalence and predictive factors in a multiracial hospital clinic population in Malaysia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013; 28: 1375-1383.
- Enti L, et al. HFE genotype, parenchymal iron accumulation, and liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2010 Mar; 138: 905-912.
- European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASDEASO Clinical practice guidelines for the management of nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016; 64: 1388-402.
- European Association for the Study of the Liver (EASL)¹; European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO) EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease, *J Hepatol*. 2016; 64: 1388-1402.
- Farrell GC, et al. NAFLD in Asia-as common and important as in the West. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013; 10: 307-318.
- Fedchuk L, et al. Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with non alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014; 40: 1209-1222.
- Ferraioli G, et al. Noninvasive assessment of liver steatosis in children: the clinical value of controlled attenuation parameter. *BMC Gastroenterol*. 2017; 17: 61.
- Italian Association for the Study of the Liver (AISF). AISF position paper on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): Updates and future directions. *Dig Liver Dis*. 2017; 49: 471-483.
- Karlas T, et al. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J Hepatol*. 2017; 66: 1022-1030.

- Karlas T, Petroff D, Garnov N, et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis in patients with NAFLD using controlled attenuation parameter and 1H-MR spectroscopy. *PLoS One*. 2014; 9.
- Kasturiratne A et al. Influence of non-alcoholic fatty liver disease on the development of diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013; 28: 142-147.
- Kleiner DE, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005; 41: 1313-1321.
- Li Z, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in mainland of China: a meta-analysis of published studies. *J Gastroenterol Hepatol*. 2014; 29: 42-51.
- Liangpunsakul S, et al. Unexplained elevations in alanine aminotransferase in individuals with the metabolic syndrome: results from the Third National Health and Nutrition Survey (NHANES III). *Am J Med Sci*. 2005; 329: 111-116.
- Mansoor S. A comprehensive review of noninvasive liver fibrosis tests in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Gastroenterol Rep*. 2015; 17: 23.
- Mauricea JB, et al. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in HIV-monoinfection AIDS. 2017; 31: 1621-1632.
- Petta S, et al. The combination of liver stiffness measurement and NAFLD fibrosis score improves the noninvasive diagnostic accuracy for severe liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2015; 35: 1566-1573.
- Portillo Sanchez P, et al. High prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus and normal plasma aminotransferase levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Oct 10.
- Rafiq N, et al. Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2009; 7: 234-238.
- Ratziu V, et al. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol*. 2010; 53: 372-384.
- Review Team, et al. *J Clin Gastroenterol World Gastroenterology Organization global guidelines: Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis*. *J Clin Gastroenterol*. 2014; 48: 467-473.
- Riley MR, et al. Underdiagnosis of pediatric obesity and underscreening for fatty liver disease and metabolic syndrome by pediatricians and pediatric subspecialists. *J Pediatr*. 2005; 147: 839-842.

- Rockstroh LK. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) in HIV. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2017; 14: 47-53.
- Schwimmer JB, et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005; 42: 641-649.
- Schwimmer JB, et al. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics.* 2006; 118: 1388-1393.
- Schwimmer JB, et al. Paediatric gastroenterology evaluation of overweight and obese children referred from primary care for suspected non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 38: 1267-1277.
- St George A, et al. Independent effects of physical activity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2009; 50: 68-76.
- Stepanova M, et al. Predictors of all-cause mortality and liver-related mortality in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci.* 2013; 58: 3017-3023.
- Tsuneto A, et al. Fatty liver incidence and predictive variables. *Hypertens Res.* 2010; 33: 638-43.
- Verna C, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in patients with HIV. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017; 2: 211-223.
- Vernon G, et al. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011; 34: 274-285.
- Vodkin I, et al. Clinical, biochemical and histological differences between HIV-associated NAFLD and primary NAFLD: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015; 41: 368-378.
- Wong VW, et al. Not routine screening, but vigilance for chronic liver disease in patients with type 2 diabetes. *J Hepatol.* 2016; 64: 1211-1213.
- www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight
- Yamazaki H, et al. Independent association between improvement of non-alcoholic fatty liver disease and reduced incidence of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2015; 38: 1673-1679.
- Younossi ZM, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016; 64: 73-84.

STEATOSI EPATICA DA FARMACI: UNA PANORAMICA

Cristina Gervasoni

*Gestione Ambulatoriale Politerapie (GAP),
III Divisione di Malattie Infettive, ASST Fatebenefratelli Milano*

Il danno epatico indotto da farmaci è una delle principali cause di insufficienza epatica acuta e trapianto nei Paesi occidentali e, sebbene raro, rappresenta un serio problema per la sua natura imprevedibile e il suo possibile decorso fatale. Si osserva più frequentemente quando si utilizzano farmaci metabolizzati per più del 50% nel fegato e ha un'incidenza difficile da determinare che viene stimata nell'intervallo da 1/10.000 a 1/1.000.000 prescrizioni anno. Inoltre, è la causa più comune di interruzioni di un farmaco sia nelle sperimentazioni cliniche sia nel post-marketing oltre a contribuire per circa il 15% delle mancate autorizzazioni all'immissione in commercio di nuove molecole a causa di problemi di sicurezza.

Un danno epatico da farmaci può manifestarsi con oltre 12 differenti fenotipi clinici; due di queste presentazioni, la steatosi epatica non alcolica e la più rara steatosi epatica acuta con acidosi lattica, sono caratterizzate da infiltrazioni di grasso negli epatociti. Alcuni farmaci che causano steatosi sono anche spesso associati ad altri tipi di danno epatico, in particolare ad un'epatite acuta con una latenza di insorgenza però più breve. La steatosi epatica farmaco-indotta è una rara forma di danno da farmaci con meno del 2% di tutti i casi di NAFLD/NASH attribuiti a essi. Va in primo luogo sottolineato che il fegato grasso indotto da farmaci è fortemente associato con durata e

dose degli stessi, oltre al fatto che alcuni farmaci che causano steatosi lo fanno a causa della loro struttura chimica e/o per interazione con caratteristiche dell'ospite (background genetico). Per poter implicare i farmaci quali agenti causali di danno epatico, ci dovrebbe essere una stretta relazione con l'assunzione, un'assenza di alterazioni epatiche prima della loro assunzione e la risoluzione dopo aver interrotto il farmaco; idealmente, anche una recidiva di tali alterazioni dovrebbe essere osservata dopo la reintroduzione (*rechallenge*) del farmaco e dovrebbe esserci una base biologica per l'epatotossicità. Molte delle associazioni segnalate tra farmaci e steatosi sono problematiche da dimostrare a causa della debole relazione temporale, la mancanza di *rechallenge* e l'alta prevalenza di NAFLD/NASH nella popolazione generale. Basti a tal proposito pensare ad alcune molecole implicate nel causare cirrosi o forme di steatosi in donne diabetiche obese di mezza età (metildopa, β -bloccanti, estrogeni, metotressato) che possono anche essere fortuite coassociazioni con una NAFLD "primaria" che si verifica più spesso tra le persone con insulino-resistenza o sindrome metabolica.

FARMACI COME FATTORI PATOGENETICI DI STEATOSI EPATICA

Molti farmaci possono causare steatosi con caratteristiche istopatologiche simili a quelle della NAFLD/NASH. Alcuni autori hanno suddiviso i farmaci in grado di indurre steatosi in tre gruppi:

- farmaci che inducono alterazioni metaboliche quali aumento di peso, insulino resistenza e dislipidemia, e possono precipitare una NAFLD/NASH latente (ad es. tamossifene, glucocorticoidi, acido valproico);
- farmaci che causano steatosi indipendentemente (ad es. amiodarone);
- farmaci che provocano casi sporadici di steatosi (ad es. carbamazepina).

La steatosi causata dai farmaci può essere poi ulteriormente caratterizzata in base alla caratteristica steatosica predominante dipendente dalla severità del danno mitocondriale (*Tabella I*). La steatosi macrovescicolare è descritta come la presenza di goccioline lipidiche da piccole a grandi nel citoplasma degli epatociti, con spostamento periferico del nucleo della cellula. Questa forma di danno epatico è spesso reversibile; tuttavia, nel tempo può evolvere in steatoepatite o cirrosi. La steatosi macrovescicolare è stata associata a trattamento con glucocorticoidi, nutrizione parenterale, metotressato, amiodarone o a farmaci chemioterapici quali 5-fluorouracile, tamossifene, irinotecan, cisplatino e asparaginasi. La steatoepatite è caratterizzata da steatosi, necroinfiammazione, *ballooning* dell'epatocita, con o senza corpi ialini di Mallory e in alcuni casi fibrosi perisinusoidale. I farmaci generalmente associati alla steatoepatite sono amiodarone, metotressato, tamossifene e irinotecano. La steatosi microvescicolare è caratterizzata dall'accumulo di numerose goccioline molto piccole nel citoplasma degli epatociti senza però spostamento periferico del nucleo. Questa è una forma di danno epatico più grave e, quando estesa o di lunga durata, può essere potenzialmente letale. Tra i farmaci associati alla steatosi microvescicolare vi sono l'acido valproico, la tetraciclina (in somministrazione endovenosa ad alte dosi), l'aspirina, gli inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa, i glucocorticoidi, i FANS e la cocaina. In molti casi la steatosi macrovescicolare può coesistere con un basso grado di steatosi microvescicolare (steatosi mista).

MECCANISMI DI STEATOSI EPATICA FARMACO-INDOTTA

La steatosi epatica è caratterizzata dall'accumulo all'interno degli epatociti di esteri dei trigliceridi derivati dalla carbosilazione del glicerolo con acidi grassi liberi. L'aumento del conte-

TABELLA 1 - Farmaci che causano steatosi e quadro istologico.

<p><i>Steatosi macrovescicolare</i></p> <p>Amiodarone Chemioterapici (5-fluorouracile, tamoxifene, irinotecan, cisplatino, asparaginasi) Glucocorticoidi Metotressato Nutrizione parenterale</p>
<p><i>Steatoepatite</i></p> <p>Amiodarone Irinotecan Metotressato Tamossifene</p>
<p><i>Steatosi microvescicolare</i></p> <p>Aspirina Cocaina Glucocorticoidi FANS (ibuprofene e naprossene) Inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa Tetraciclina (somministrazione endovenosa ad alte dosi) Acido valproico</p>

nuto di acidi grassi liberi nel fegato può essere causato o da un maggiore assorbimento (dal tessuto periferico, principalmente tessuto adiposo e, in misura minore, dalla dieta), o da un aumento della lipogenesi negli epatociti, o da un loro ridotto utilizzo tramite β -ossidazione o da una ridotta secrezione (*Figura 1*). L'aumento della lipogenesi, mediante la quale l'acetil-CoA viene convertito in acidi grassi negli epatociti è, almeno in parte, il meccanismo responsabile dell'epatotossicità di amiodarone e tamossifene.

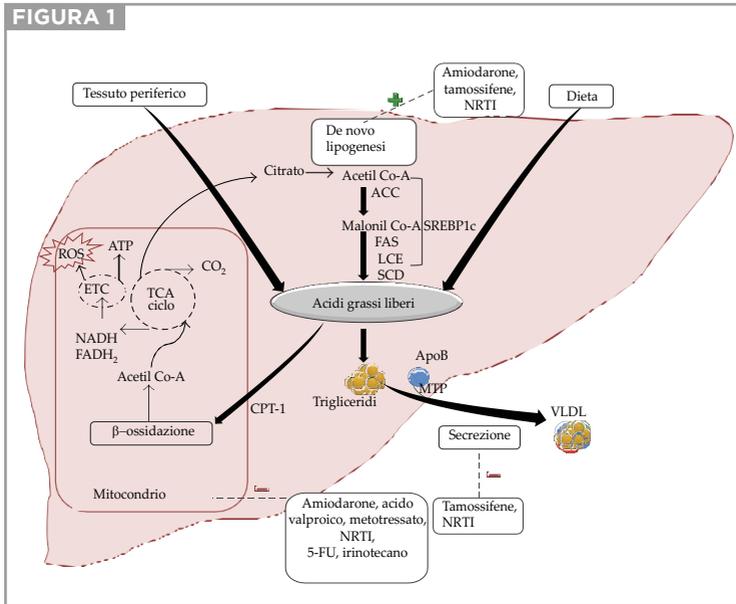
Un altro meccanismo che può portare ad aumentare l'accumulo negli epatociti di acidi grassi liberi è la diminuzione dell'incorporazione degli stessi nelle lipoproteine a bassissima densità (VLDL) o la ridotta secrezione di queste ultime. Questo meccanismo è stato dimostrato nella steatosi indotta dal tamossifene. L'effetto lipotossico non è semplicemente una conseguenza dell'accumulo di acidi grassi liberi nel fegato ma è un meccanismo più complesso che coinvolge alterazioni nel metabolismo lipidico negli epatoci-

ti come dimostrato dal fatto che modifiche nelle lipoproteine pro-aterogene (VLDLD, LDL) possono precedere l'insorgenza di NAFLD.

I mitocondri svolgono un ruolo fondamentale nel metabolismo dei lipidi e nella sintesi di ATP. Per questo motivo sono stati ampiamente studiati nel danno epatico indotto da farmaci. Vari studi hanno dimostrato che molecole come amiodarone e tamossifene possono accumularsi nei mitocondri e interferire con la catena di trasporto mitocondriale degli elettroni e con la β -ossidazione, causando di conseguenza steatosi microvescicolare e necrosi. Proprio per questo motivo, lo stress ossidativo e la perossidazione lipidica mediata dalla produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS, acronimo di reactive oxygen species) sono stati implicati come una causa importante di danno epatico da farmaci. L'ipotesi che la mancanza della protezione antiossidante sia coinvolta nella progressione del danno epatico derivante dall'infiammazione avanzata e dalla fibrosi è confermata indirettamente da studi che dimostrano un miglioramento della steatosi indotta da farmaci con diversi antiossidanti (vitamina E, glutatione, ecc.).

STEATOSI EPATICA ACUTA

L'infiltrazione grassa del fegato raramente esordisce con segni di danno epatico acuto. Una presentazione di tal genere si osserva nella sindrome di Reye, una malattia dall'esito potenzialmente letale, che si osserva quasi esclusivamente nei bambini associata all'assunzione di aspirina. È caratterizzata da manifestazioni patologiche che interessano prevalentemente il cervello e il fegato, con encefalopatia acuta e steatosi epatica. La biopsia epatica di solito rivela una steatosi microvescicolare. I bambini con la sindrome di Reye presentano comunemente disturbi del ciclo dell'urea, come il deficit di ornitina transcarbamilasi o altre malattie metaboliche. L'aumentato rischio di sindrome di



Reye in bambini e adolescenti è uno dei motivi per cui l'aspirina non è raccomandata in persone di età inferiore a 19 anni a meno che non sia specificamente indicato per la terapia della malattia di Kawasaki o come antiaggregante nella prevenzione delle trombosi.

Un'insufficienza epatica con acidosi lattica è stata associata all'utilizzo di alcuni inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa tra cui la fialuridina. Uno studio di fase 2 che utilizzava questo agente nei pazienti con epatite B cronica è stato interrotto per insorgenza di epatite acuta con evidenza istologica di steatosi, colestasi, acidosi lattica e pancreatite in 7 dei 15 soggetti arruolati trattati per almeno 9 settimane. Questo quadro clinico non era stato visto negli studi pilota in cui il farmaco era stato somministrato solo per 2-4 settimane, suggerendo il ruolo della durata del farmaco nel suo rischio di epatotossicità.

FARMACI E NAFLD/NASH

In *Tabella 2* e in *Tabella 3* sono elencati alcuni farmaci che sono stati comunemente associati a steatosi epatica con rispettivamente il meccanismo alla base del danno, quando noto, e alcune caratteristiche cliniche.

CONDIZIONI CHE POSSONO AUMENTARE LA SUSCETTIBILITÀ ALLA STEATOSI INDOTTA DA FARMACI

Fattori genetici, una dieta ricca di acidi insaturi (dimostrato però solo in modelli sperimentali murini) e una steatosi epatica preesistente possono essere fattori di rischio per lo sviluppo di fegato grasso.

Una malattia epatica preesistente sembra non essere associata ad un aumento del rischio di epatotossicità iatrogena. Tuttavia, vi sono sempre maggiori evidenze che alcuni farmaci possono indurre più frequentemente e con maggiore gravità danno epatico in presenza di un fegato grasso, mentre altri farmaci possono aggravare una NAFLD preesistente, con accelerazione della transizione dalla steatosi alla steatoepatite.

Esempi di farmaci la cui epatotossicità può essere più frequente e grave nei pazienti con NAFLD includono paracetamolo, antibiotici (piperacillina/tazobactam, telitromicina), l'agente antitrombotico ticlopidina e antiipertensivi come fosinopril e losartan. Questa suscettibilità è probabilmente associata all'alterato profilo metabolico (pro-ossidante) nella NAFLD, con più alti livelli di ROS, ridotta sintesi di ATP, infiammazione e sovrapproduzione di metaboliti citocromiali tossici; questa situazione può spostare la curva dose-risposta di alcuni farmaci così da produrre una risposta epatotossica nell'intervallo terapeutico.

L'incidenza di steatosi epatica aumenta ovviamente con l'obesità, con un'incidenza che passa dal 10-24% per la popolazione

generale al 58-74% per le persone obese. Pertanto, l'aumentata suscettibilità a diversi farmaci riportata nei pazienti obesi può essere correlata al fatto che il fegato steatotico è più vulnerabile ad alcuni insulti tossicologici. Ad esempio, l'epatotossicità da alotano o da metotressato sono più frequenti e gravi nei pazienti obesi. Dal momento che la politerapia è una pratica comune tra questi individui, a causa dell'alta prevalenza di malattie croniche, questo è un potenziale confondente in quanto l'epatotossi-

TABELLA 2 - Farmaci che causano steatosi e meccanismo di danno epatico.

Aspirina	Blocca la β -ossidazione consumando coenzima A (CoA); aumenta la permeabilità mitocondriale mediante la formazione dei <i>mitochondrial permeability transition pore</i> (MPT)
Acido valproico	Inibisce l'attività dell'enzima carnitin palmitoyltransferase I (CPT-1), sequestrando CoA; arresto della sintesi della catena di trasporto degli elettroni (ETC) e adenosin trifosfato (ATP); favorisce aumento di peso
Cocaina	Va incontro a n-ossidazione con produzione di prodotti epatotossici e inibizione della β -ossidazione
NRTI (zidovudina and didanosina)	Disfunzione mitocondriale dovuta alla deplezione del mtDNA e alla stimolazione dell'autofagia
Tetraciclina	Inibisce la β -ossidazione degli acidi grassi e la secrezione di VLDL
FANS (ibuprofene and naprossene)	Inibiscono la β -ossidazione degli acidi grassi a catena corta e media
Glucocorticoidi	Favoriscono aumento di peso e intolleranza al glucosio; inibiscono la β -ossidazione mitocondriale, diminuiscono la secrezione di trigliceridi epatici e inducono la perossidazione lipidica
Amiodarone	Riduce la β -ossidazione degli acidi grassi; aumenta la perossidazione lipidica, la produzione di ROS e la lipogenesi
5-fluorouracile	Sconosciuto
Irinotecano	Sconosciuto
Metotressato	Inibisce la catena di trasporto mitocondriale degli elettroni
Tamossifene	Promuove la sintesi de novo degli acidi grassi e inibisce la β -ossidazione degli acidi grassi

cità può essere correlata all'esposizione a più farmaci piuttosto che all'obesità. Va, tuttavia, sottolineato che la maggiore suscettibilità all'epatotossicità nell'obesità potrebbe non essere correlata solo alla steatosi di per sé ma ad altri meccanismi associati al metabolismo dei farmaci o ad alterazioni infiammatorie nel tessuto adiposo che interessano indirettamente il fegato.

Allo stesso modo, la presenza di un diabete mellito, malattia associata a maggior prevalenza e gravità di NAFLD, è un fattore di rischio indipendente per epatotossicità.

DIAGNOSI E GESTIONE DEI PAZIENTI CON STEATOSI DA FARMACI

Poiché la steatosi può essere indotta o aggravata da più fattori scatenanti, è importante eseguire una corretta diagnosi differenziale di steatosi iatrogena che preveda una valutazione attenta di tutte le possibili fonti di *bias* come la presenza di sindrome metabolica, la rapida perdita di peso, un elenco dettagliato delle

TABELLA 3

<i>Farmaco</i>	<i>Principali caratteristiche cliniche del danno epatico</i>
Aspirina	Steatosi epatica acuta (sindrome di Reye) La sospensione immediata di aspirina e una terapia di supporto possono favorire una rapida risoluzione dell'evento acuto
Glucocorticoidi/ Estrogeni	Rapida scomparsa della steatosi in seguito a sospensione degli steroidi Raccomandato lo screening per epatite B prima di iniziare la terapia con questi farmaci (rischio elevato di riattivazione del virus B)
Amiodarone	Può determinare insufficienza epatica acuta specialmente se usato per via endovenosa Può essere di difficile inquadramento clinico (da steatoepatite, cirrosi, a insufficienza epatica terminale) Può manifestarsi una tossicità da accumulo Il farmaco si accumula nei tessuti e vi rimane per mesi dopo la sospensione

>>> *Segue*

Steatosi epatica da farmaci: una panoramica

>>> *Continua*

<i>Farmaco</i>	<i>Principali caratteristiche cliniche del danno epatico</i>
Acido valproico	La steatosi epatica da valproato si può presentare in 3 forme distinte: - insufficienza epatica acuta con o senza ittero - steatosi epatica acuta (tipo sindrome di Reye) - iperammoniemia in assenza di insufficienza epatica Una terapia immediata con carnitina per via endovenosa migliora la sopravvivenza in seguito ad eventi acuti
Inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa - didanosina - stavudina - zidovudina - fialuridina	Si può presentare come steatosi epatica acuta (tipo sindrome di Reye) o in forma più lieve, silente, associata a steatosi epatica e aumento degli enzimi epatici
Peg-L-asparaginasi	Insufficienza epatica di grado severo con ittero
Tamoxifene	Forma di steatosi epatica, spesso silente, che si può manifestare nei primi 2 anni di terapia
Metotressato	Può essere di difficile inquadramento clinico (da steatoepatite, cirrosi, a insufficienza epatica terminale) Può favorire la progressione di un quadro clinico preesistente di NAFLD Può manifestarsi una tossicità da accumulo (specialmente nei soggetti che sono stati trattati con una dose cumulativa di 5 g) Evitare il consumo di alcolici e di diete ricche in carboidrati Importante trattare la presenza di fattori di rischio metabolici Raccomandato lo screening per epatite B prima di iniziare la terapia (rischio elevato di riattivazione del virus B) Può essere utile una supplementazione con folati
Tetraciclina	La somministrazione per via endovenosa è stata associata a steatosi epatica acuta soprattutto in gravidanza (tale manifestazione è più rara in seguito a somministrazione per via orale; anche in questo caso i rischi maggiori si hanno in gravidanza).

terapie assunte e la durata dell'assunzione dei farmaci potenzialmente epatotossici. Inoltre, è bene ricordare che, a causa dell'elevata prevalenza della steatosi epatica non alcolica in alcune aree del mondo, è altamente probabile che i pazienti presentino molteplici cause di steatosi/steatoepatite.

Di seguito alcuni suggerimenti pratici per la gestione di una steatosi indotta da farmaci:

1. In presenza di steatosi epatica acuta il farmaco potenzialmente responsabile dell'evento dovrebbe essere immediatamente sospeso.
2. In presenza di steatosi epatica non acuta è comunque consigliabile sospendere il farmaco potenzialmente responsabile, anche in presenza di altri fattori di rischio per steatosi. Naturalmente, tale decisione va valutata considerando soprattutto il controllo della patologia per cui tale farmaco è stato prescritto.
3. È molto importante discutere sempre con il paziente i potenziali rischi di epatotossicità (acuta o cronica) di tutti i farmaci assunti, anche quelli di uso comune. Naturalmente, il rischio potenziale di steatosi iatrogena va sempre valutato rispetto ai potenziali benefici del trattamento (per esempio una chemioterapia per tumori particolarmente aggressivi).
4. Una volta presa la decisione di continuare la terapia con un farmaco potenzialmente epatotossico, è importante fornire al paziente informazioni per ridurre al minimo l'impatto di altri fattori di rischio per la comparsa di steatosi epatica, come attività fisica regolare, dieta a basso contenuto di carboidrati, ridotto consumo di alcolici e ridotta assunzione di altri farmaci epatotossici e, quando necessario integrare con epatoprotettori. Nei casi in cui l'agente induttore di steatosi debba essere utilizzato per lunghi periodi (o cronicamente) è importante eseguire controlli periodici per controllare l'eventuale comparsa o peggioramento della fibrosi.

BLOGRAFIA

Albukhari AA, Gashlan HM, El-Beshbishy HA, et al. Caffeic acid phenethyl ester protects against tamoxifen-induced hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2009; 47: 1689-1695.

- Bessone F, Dirchwolf M, Rodil MA, et al. Drug-induced liver injury in the context of nonalcoholic fatty liver disease - a physiopathological and clinical integrated view. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018; 48: 892-913.
- Cole LK, Jacobs RL, Vance DE. Tamoxifen induces triacylglycerol accumulation in the mouse liver by activation of fatty acid synthesis. *Hepatology.* 2010; 52: 1258-1265.
- Dalaklioglu S, Genc GE, Aksoy NH, et al. Resveratrol ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via inhibition of lipid peroxidation. *Human and Experimental Toxicology.* 2013; 32: 662-671.
- Fontana RJ. Acute liver failure including acetaminophen overdose. *Medical Clinics of North America.* 2008; 92: 761-794.
- Fromenty B, Fisch C, Labbe G, et al. Amiodarone inhibits the mitochondrial B-oxidation and fatty acids and produces microvesicular steatosis of the liver in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1990; 255: 1371-1376.
- Grieco A, Forgione A, Miele L, et al. Fatty liver and drugs. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2005; 9: 261-263.
- Jahovic N, Cevik H, Sehirli AO, et al. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *Journal of Pineal Research.* 2003; 34: 282-287.
- Kleiner DE. The pathology of drug-induced liver injury. *Seminars in Liver Disease.* 2009; 29: 364-372.
- Larosche I, Lett'eron P, Fromenty B, et al. Tamoxifen inhibits topoisomerases, depletes mitochondrial DNA, and triggers steatosis in mouse liver. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2007; 321: 526-535.
- Larrey D. Epidemiology and individual susceptibility to adverse drug reactions affecting the liver. *Seminars in Liver Disease.* 2002; 22: 145-155.
- Massart J, Begriche K, Moreau C, Fromenty B. Role of non-alcoholic fatty liver disease as risk factor for drug-induced hepatotoxicity. *J Clin Transl Res.* 2017; 3 (Suppl. 1): 212-232.
- Ortega-Alonso A, Stephens C, Lucena MI, Andrade RJ. Case characterization, clinical features and risk factors in drug-induced liver injury. *Int J Mol Sci.* 2016; 17: E714.
- Patell R, Dosi R, Joshi H, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in obesity. *J Clin Diagn Res.* 2014; 8: 62-66.

- Rabinowich L, Shibolet O. Drug Induced Steatohepatitis: An Uncommon Culprit of a Common Disease. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 168905.
- Ramachandran R, Kakar S. Histological patterns in drug induced liver disease. *Journal of Clinical Pathology.* 2009; 62: 481-492.
- Samala N, Chalasani N. Drug-Induced fatty liver disease. *Current Hepatology Reports.* 2018; 17: 260-269.
- Suddek GM. Protective role of thymoquinone against liver damage induced by tamoxifen in female rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.* 2014; 92: 640-644.
- Tarantino G, Conca P, Basile V, et al. A prospective study of acute drug-induced liver injury in patients suffering from non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res.* 2007; 37: 410-415.
- Uraz S, Tahan V, Aygun C, et al. Role of ursodeoxycholic acid in prevention of methotrexate-induced liver toxicity. *Digestive Diseases and Sciences.* 2008; 53: 1071-1077.
- Zelber-Sagi S, Salomone F, Yeshua H, et al. Non-high-density lipoprotein cholesterol independently predicts new onset of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International.* 2014; 34: e128-e135.
- Zhang X, Ouyang J, Thung SN. Histopathologic manifestations of drug-induced hepatotoxicity. *Clinics in Liver Disease.* 2013; 17: 547-564.
- Zhao F, Xie P, Jiang J, et al. The effect and mechanism of tamoxifen-induced hepatocyte steatosis *in vitro*. *International Journal of Molecular Sciences.* 2014; 15: 4019-4030.

STRATEGIE FARMACOLOGICHE ATTUALI E FUTURE PER LA TERAPIA DELLA STEATOEPATITE NON-ALCOLICA (NASH) NEL PAZIENTE ADULTO

Dario Cattaneo

*Gestione Ambulatoriale Politerapie (GAP),
UOSD Farmacologia Clinica, ASST Fatebenefratelli Milano*

INTRODUZIONE

In base alle stime attuali, la steatoepatite non alcolica (acronimo NASH, dall'inglese *non-alcoholic steatohepatitis*) rappresenta la seconda causa di cirrosi in pazienti adulti in attesa di trapianto di fegato e si prevede che presto possa diventare la prima causa. I dati epidemiologici ci dicono infatti che, attualmente, vi sono oltre 2 miliardi di persone nel mondo in sovrappeso o con obesità franca, due condizioni che predispongono all'accumulo di grasso a livello epatico e alla comparsa di sindrome metabolica, aumentando di fatto il rischio di progressione della malattia epatica da una condizione benigna e reversibile (steatosi epatica non-alcolica, NAFLD, *non-alcoholic fatty liver diseases*) ad una patologica, la NASH. Questo scenario, già preoccupante allo stato attuale, potrebbe aggravarsi ulteriormente nei prossimi anni: è stato infatti recentemente ipotizzato che, nel 2025, potremo avere oltre 20 milioni di soggetti con obesità

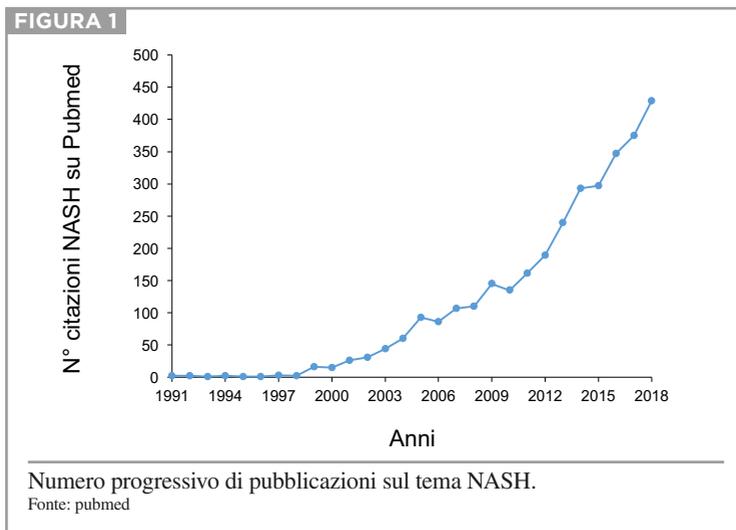
di grado severo e quasi 3 miliardi di soggetti in sovrappeso. Tali stime forniscono un razionale più che solido per spiegare il notevole interesse da parte dei ricercatori e delle *Big Pharma* per l'identificazione di nuovi target farmacologici per lo sviluppo di terapie innovative per la NASH (*Tabella 1*), come ben evidenziato dall'aumento esponenziale di pubblicazioni su questa tematica osservato negli ultimi anni (*Figura 1*).

In questo articolo verranno inizialmente accennate le strategie farmacologiche attuali per la gestione del paziente con NASH, mentre la seconda parte, più estesa, sarà dedicata alle molecole attualmente in fase di studio.

TABELLA 1 - *Terapie farmacologiche per la NASH indicate dalle linee guida internazionali.*

<i>Farmaco</i>	<i>European Association for the Study of the Liver (EASL)</i>	<i>American Association for the Study of Liver Disease (AASLD)</i>
Vitamina E	Non raccomandata ma può essere utilizzata	Può essere utilizzata nei pazienti con NASH confermata da biopsia epatica senza diabete e cirrosi (dose 300-800 mg/die)
Pioglitazone	Non menzionato in dettaglio	Può essere utilizzato nei pazienti con NASH confermata da biopsia epatica
Metformina	Insufficienti evidenze dalla letteratura scientifica	Non raccomandata come trattamento specifico per la NASH
GLP-1RA	Non menzionati	Prematuri per essere considerati un trattamento specifico per la NASH
Omega-3	Efficaci nel ridurre i lipidi a livello sistemico ed epatico ma senza evidenze nella NASH	Non raccomandati come trattamento specifico per la NASH. Eventualmente utilizzabili nella NAFLD in presenza di ipertrigliceridemia
Statine	Possono essere utilizzate per ridurre i livelli di LDL e il rischio di eventi cardiovascolari	Possono essere utilizzate per trattare la dislipidemia. Le statine dovrebbero essere evitate in presenza di cirrosi scompensata

GLP-1RA: glucagon-like peptide 1 receptor agonist.



TERAPIE ATTUALI PER NASH/NAFLD

In *Tabella 1* sono riassunti i farmaci attualmente raccomandati per la terapia dei pazienti con NASH/NAFLD dalle linee guida europee (*European Association for the Study of the Liver, EASL*) ed americane (*American Association for the Study of Liver Disease, AASLD*). In base a tali linee guida la terapia farmacologica è indicata nel caso di diagnosi di NASH con fibrosi \geq F2 e va sempre associata ad un'educazione al paziente per quanto riguarda il proprio stile di vita (riduzione dell'introito calorico giornaliero, aumento dell'attività fisica, ecc.). Tuttavia, come evidenziato nella *Tabella 1*, i livelli di raccomandazione per l'utilizzo di questi farmaci (antiossidanti, ipolipidemizzanti, ipoglicemizzanti orali, ecc.) come terapia specifica della NASH sono veramente molto bassi a causa della mancanza di dati solidi dalla letteratura scientifica; è ovviamente sottinteso che tali terapie sono di ben documentata efficacia per le diverse pato-

logie per cui sono state sviluppate (dislipidemia, iperglicemia, obesità, ipertensione, ecc.).

Antiossidanti/epatoprotettori

Il rationale per l'utilizzo della vitamina E come *scavenger* di radicali liberi è rappresentato dal significativo coinvolgimento dello stress ossidativo nella progressione della NASH verso la fibrosi. Studi indipendenti hanno dimostrato che il trattamento prolungato con vitamina E (con dosi comprese tra 300 e 800 mg/die) in pazienti con NASH si associava ad una riduzione dei livelli degli enzimi epatobiliari e a un miglioramento del quadro istologico e dello stato di infiammazione; tuttavia, in tali studi non si è osservato un miglioramento nella fibrosi. Inoltre, permangono molti dubbi sul possibile aumentato rischio di mortalità (soprattutto per emorragie) in pazienti trattati a lungo con vitamina E. Altri antiossidanti utilizzati con risultati discordanti sono il glutatione e l'acido ursodeossicolico.

Agonisti dei recettori PPAR alfa e/o gamma

I recettori attivati da proliferatori perossisomiali (PPAR) appartengono alla superfamiglia dei recettori nucleari. Si riconoscono 3 isotipi codificati da tre geni diversi: α , β/δ e γ . I PPAR- α sono presenti soprattutto nel fegato e nei tessuti con elevato catabolismo degli acidi grassi come cuore, muscolo scheletrico, grasso bruno e reni. L'attivazione recettoriale dei PPAR- α mediata dai fibrati (gemfibozil, clofibrato, bezafibrato, ecc.) determina:

- riduzione del contenuto di trigliceridi nelle lipoproteine e aumento dell'HDL;
- aumento della sintesi dei trasportatori di acidi grassi sulla membrana;
- aumento della β e ν ossidazione degli acidi grassi e stimolazione della chetogenesi;
- aumento della sensibilità all'insulina.

Anche se non vi sono studi che abbiamo specificatamente dimostrato l'efficacia degli agonisti di PPAR- α in pazienti con NASH, l'utilizzo di bezafibrato si è dimostrato efficace in pazienti oncologici con NASH indotta da tamossifene.

I PPAR- γ sono espressi prevalentemente a livello del tessuto adiposo e, in misura minore, nel colon, reni e fegato. Questi recettori svolgono un ruolo chiave nei processi di adipogenesi; un loro deficit (ridotta espressione e/o attività) è stato associato allo sviluppo di insulino-resistenza. Dal punto di vista farmacologico, gli agonisti di questa classe di recettori sono i tiazolidinedioni (pioglitazone), farmaci ipoglicemizzanti orali utilizzati per migliorare la sensibilità all'insulina in soggetti diabetici.

Trial randomizzati in doppio cieco hanno dimostrato che pioglitazone migliora significativamente la steatosi e gli indici infiammatori sia in pazienti diabetici sia in pazienti con una condizione di pre-diabete. Tuttavia, al momento permangono molti dubbi sul profilo di sicurezza di questa classe di farmaci legati all'aumentato rischio, ipotizzato da alcuni ricercatori, di tumore alla prostata o al pancreas, di fratture nelle donne, di ritenzione idrica e di aumento ponderale.

Molto meno caratterizzati sono i PPAR- δ . L'attivazione di questi recettori determina:

- aumentata espressione della lipoproteina lipasi e di enzimi della β ossidazione nel tessuto adiposo;
- aumento del catabolismo di acidi grassi nelle fibre muscolari;
- aumento dell'uptake e dell'ossidazione di acidi grassi a livello cardiaco;
- riduzione dell'output di glucosio e aumento dello shunt dei pentosi-fosfato a livello epatico;
- shift da fenotipo infiammatorio a fenotipo antinfiammatorio nei macrofagi.

Al momento non vi sono in commercio molecole che agiscano selettivamente da agonisti di PPAR- δ ; sono in fase di studio

molecole che agiscono da agonisti per PPAR- α/δ e PPAR- α/γ (si veda oltre).

Altri ipoglicemizzanti orali

Il diabete mellito rappresenta un significativo fattore di rischio per la comparsa di NASH e, più in generale, di mortalità per patologie epatiche. È stato discusso già in precedenza come pioglitazone, rappresenti un'opzione terapeutica nei pazienti con NASH. Oltre a questo farmaco, va sicuramente citata la metformina, un ipoglicemizzante orale appartenente alla classe delle biguanidi, considerata come trattamento di prima linea dalle linee guida internazionali per la terapia del diabete mellito. Anche se questo farmaco si è dimostrato parzialmente efficace nel ridurre l'incidenza di carcinoma epatico, al momento non vi sono studi che abbiano dimostrato l'efficacia di metformina nel migliorare i livelli di enzimi epatici o l'istologia epatica in pazienti con NASH/NAFLD.

Tra gli altri ipoglicemizzanti, vi è attualmente un considerevole interesse verso il possibile utilizzo degli incretino-mimetici, una classe di farmaci sviluppata per ripristinare l'attività degli ormoni incretinici (ridotti nel paziente diabetico), liberati dall'intestino durante i pasti, che si legano a recettori delle cellule β pancreatiche stimolando la secrezione di insulina in risposta all'assorbimento di glucosio. Le incretine influenzano numerosi meccanismi patofisiologici normalmente non interessati dalle terapie antidiabetiche tradizionali, tra cui la disfunzione delle cellule β e l'alterazione della secrezione di glucagone da parte delle cellule α . La classe degli incretino-mimetici comprende gli analoghi del *glucacon like peptide 1* (GLP-1) come exenatide, liraglutide, dulaglutide, ecc. e gli inibitori della dipeptidil peptidasi4 (DPP4, enzima responsabile della degradazione delle incretine endogene) come sitagliptin, vidagliptin, ecc. Al momento, però, le evidenze sul possibile ruolo degli incretino-mimetici nella terapia della NASH sono molto limitate.

Vanno però citati i risultati incoraggianti degli studi di fase II che hanno dimostrato l'efficacia e la tollerabilità di liraglutide (1,8 mg/die) in pazienti sovrappeso con diagnosi di NASH in termini di risoluzione della malattia rispetto al placebo (39% vs 9%). Per contro, due studi di fase II non hanno dimostrato benefici significativi da sitagliptin (100 mg/die) rispetto a placebo nel ridurre la fibrosi o il contenuto di grassi nel fegato. In base a tali evidenze, gli analoghi di GLP-1 sembrano da preferire rispetto agli inibitori di DPP4 nella terapia del paziente diabetico con NASH.

Molto più promettenti in questo ambito sembrano essere gli inibitori dei trasportatori sodio-glucosio (empagliflozin canagliflozin dapagliflozin ipragliflozin, ecc.), una nuova classe di farmaci ipoglicemizzanti che, inibendo il cotrasportatore responsabile del 90% del riassorbimento di glucosio a livello tubulare, inducono glicosuria con conseguente effetto di riduzione della glicemia. Oltre a questo effetto, diversi studi hanno dimostrato che la terapia con ipragliflozin o dapagliflozin in soggetti diabetici è associata ad una riduzione della steatosi ed un miglioramento generale degli indici epatici. Al momento è in fase di reclutamento un trial di fase III volto a valutare l'efficacia e la tollerabilità di dapagliflozin 10 mg/die versus placebo in 100 pazienti diabetici con NASH confermata da biopsia epatica. L'obiettivo primario dello studio, i cui risultati sono attesi per novembre 2021, è rappresentato dal miglioramento dello score istologico epatico dopo 12 mesi di trattamento.

Farmaci ipolipidemizzanti

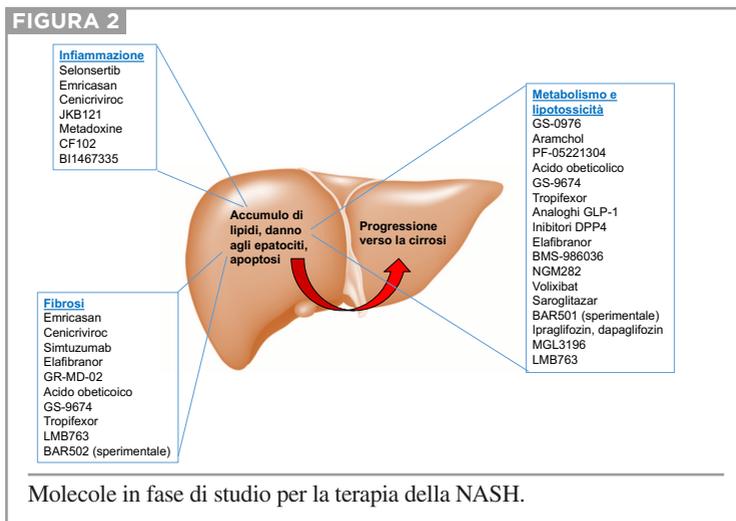
Analogamente a quanto già detto per obesità e diabete, anche la dislipidemia rappresenta un fattore di rischio per la comparsa di steatosi epatica e, di conseguenza, i farmaci ipolipemizzanti sono stati considerati come possibile opzione terapeutica per NASH/NAFLD. Tra i farmaci attualmente in commercio, le sta-

tine si sono dimostrate efficaci nel ridurre il rischio di eventi cardiovascolari e i livelli di transaminasi in pazienti con NASH e, più in generale, di ridurre l'infiammazione a livello epatico con miglioramento della fibrosi in pazienti con NAFLD; mancano, tuttavia, studi prospettici randomizzati. Anche i risultati ottenuti con ezetimibe - un farmaco in grado di inibire selettivamente l'assorbimento di colesterolo - non possono al momento essere considerati conclusivi: una meta-analisi ha, infatti, documentato che questo farmaco riduce i livelli di enzimi epatici e la steatosi epatica ma con risultati contrastanti a livello istologico. Infine, fallimentare è stato l'utilizzo degli acidi grassi poli-insaturi omega-3: due studi su vasta scala non hanno infatti documentato un beneficio significativo di questi farmaci nei pazienti con NASH.

TERAPIE FARMACOLOGICHE IN STUDIO PER LA NASH

A differenza delle strategie terapeutiche attuali, mirate principalmente a controllare le diverse patologie che possono portare allo sviluppo di NASH (dislipidemia, obesità, diabete, ecc.), i farmaci attualmente in fase di studio sono stati specificatamente disegnati e sviluppati per attenuare il fenomeno della lipotossicità, riducendo l'accumulo selettivo dei lipidi a livello epatico e/o inibendo le vie biochimiche che possono portare ad un danno selettivo dell'epatocita. Come rappresentato in *Figura 2*, le molecole attualmente in fase di sviluppo agiscono a livello del metabolismo lipidico, dei processi infiammatori e/o dei processi fibrotici con alcune di esse che possono avere effetti multipli su questi 3 processi.

Nei capitoli successivi verranno prima presentate le terapie in fase avanzata di sperimentazione clinica (studi di fase III), e successivamente verranno discusse le molecole in fase più precoce (studi di fase II).



Farmaci in studi di fase III

Al momento vi sono 4 molecole “innovative” in fase III di studio come terapia della NASH (*Tabella 2*). È interessante osservare come i farmaci siano caratterizzati da target diversi; analogamente sono evidenziabili differenze sostanziali nei criteri di inclusione degli studi ed i relativi obiettivi primari. Ciò rende difficile una formale comparazione tra queste molecole; non è, inoltre, da escludere che esse possano essere, in futuro, combinate tra di loro per una gestione ottimale della malattia specialmente se in fase avanzata.

L'**acido obeticoico** è un agonista potente ed altamente selettivo del recettore farnesoide X (FXR), un recettore nucleare per gli acidi biliari espresso nel fegato e nell'intestino che svolge un ruolo chiave nei processi di infiammazione, fibrosi e nella regolazione del metabolismo lipidico e glucidico. Tale farmaco ha già ricevuto nel 2016 l'autorizzazione all'immissione in

TABELLA 2 - Studi di fase III attualmente in corso con terapie farmacologiche innovative per la NASH. Fonte: ClinicalTrials.gov.

Farmaco	Meccanismo d'azione	Nome del trial (n. pazienti)	Principali criteri di inclusione	Endpoint primari	Stima conclusione dello studio
Acido obetico	Agonista del Farnesoid X receptor	REGENERATE (n=2000)	NAS ≥ 4 con ogni componente dello score ≥ 1	Miglioramento istologico e risoluzione della NASH Outcome composito (mortalità, cirrosi, HCC, trapianto, MELD >15)	Ottobre 2021
		REVERSE	Diagnosi confermata di NASH e stadio di fibrosi di 4	Miglioramento della fibrosi di >1 stadio senza peggioramento della NASH	Luglio 2020
Cenicriviroc	Antagonista CCR2/CCR5	AURORA (n=2000)	Biopsia epatica con fibrosi di stadio 2-3	Miglioramento della fibrosi di >1 stage senza peggioramento della NASH Outcome composito (mortalità, cirrosi e outcome epatici)	Luglio 2019
Elafibranor	Agonista PPAR α/δ	RESOLVE-IT (n=2000)	NAS ≥ 4 con ogni componente dello score ≥ 1	Miglioramento istologico e risoluzione della NASH senza peggioramento della fibrosi Outcome composito (mortalità, cirrosi, HCC e outcome epatici)	Dicembre 2021
Selonsertib	Inibitore di ASK-1	STELLAR-3 (n=800) STELLAR-4 (n=800)	NASH (biopsia epatica) con fibrosi F3 NASH (biopsia epatica) con fibrosi F4 (cirrosi)	Miglioramento della fibrosi di >1 stadio senza peggioramento della NASH (per entrambi gli studi) Sopravvivenza senza eventi a 240 settimane (per entrambi gli studi)	Fine 2019
NAS: NAFLD activity score; HCC: hepatocellular carcinoma; ASK-1: apoptosis signal-regulating kinase 1.					

commercio per il trattamento della colangite biliare in combinazione con l'acido ursodesossicolico. Successivamente uno studio di fase II (studio FLINT) ha valutato il possibile ruolo dell'acido obeticolico, somministrato alla dose di 25 mg per 72 settimane in 283 pazienti con diagnosi di NASH in assenza di cirrosi (vs. placebo). L'obiettivo primario - un miglioramento di almeno 2 punti del NAFLD Activity Score (NAS) in assenza di fibrosi - è stato raggiunto nel 45% dei pazienti in trattamento con il farmaco rispetto al 21% di quelli trattati con placebo; inoltre, si è osservata anche una riduzione significativa della fibrosi (35% vs 19%). Il trattamento si è dimostrato ben tollerato nonostante un aumento significativo delle LDL (controllato con l'aggiunta di statina). Il trial di fase III attualmente in corso (REGENERATE) confronterà l'efficacia di due dosi di acido obeticolico (10 mg vs 25 mg) vs. placebo in 2000 pazienti con diagnosi di NASH confermata da biopsia epatica. Da sottolineare che recentemente sono state sollevate alcune perplessità sulla *safety* dell'acido obeticolico, soprattutto in pazienti con malattia epatica (Child-Pugh B/C) trattati per colangite biliare primaria che hanno sviluppato scompenso epatico o insufficienza epatica acuta.

Cenicriviroc è un antagonista dei recettori per chemochine CCR2 e CCR5 espressi principalmente sui monociti attivati. L'attivazione di questi recettori induce una migrazione dei macrofagi nel fegato con conseguente attivazione della cascata infiammatoria locale che favorisce la comparsa di fibrosi epatica. Cenicriviroc (già studiato in precedenza come possibile farmaco antiretrovirale per HIV) ha dimostrato attività antibroica e antinfiammatoria in molteplici modelli animali e, più recentemente, nei pazienti con fibrosi di grado F1-F3 arruolati in un trial di fase II denominato CENTAUR. A questo studio hanno preso parte 289 pazienti adulti con NASH confermata istologicamente e fibrosi epatica randomizzati a ricevere ceni-

criviroc 150 mg/die versus placebo. Al termine del primo anno, 242 soggetti hanno continuato lo studio per altri 12 mesi (in questa seconda parte dello studio anche i pazienti in placebo sono stati trattati con cenicriviroc).

Gli obiettivi sono stati i seguenti:

- miglioramento della fibrosi (stadio >1);
- miglioramento della fibrosi (stadio >1 o >2) senza peggioramento della NASH;
- mantenimento della risposta antifibrotica dal primo al secondo anno (farmaco attivo vs. placebo);
- sicurezza e tollerabilità.

Al termine del primo anno, l'11% dei pazienti trattati con cenicriviroc vs. il 3% del braccio placebo hanno avuto una significativa risposta antifibrotica senza peggioramento della NASH. Il beneficio si è mantenuto anche nel secondo anno dello studio: il 60% dei pazienti in terapia con cenicriviroc ha mostrato, infatti, una risposta antifibrotica, una percentuale doppia rispetto a quella ottenuta con placebo (30%), e ciò è risultato particolarmente evidente nei soggetti con fibrosi in stadio 3 (86%). L'analisi dei biomarcatori ha evidenziato, inoltre, che cenicriviroc riduce sensibilmente i livelli della proteina C reattiva ad alta sensibilità rispetto al basale senza indurre alcun effetto sugli enzimi epatici. Il farmaco si è dimostrato ben tollerato con eventi avversi analoghi a quelli osservati con il placebo; non si sono verificati decessi o interruzioni del trattamento a causa di eventi avversi gravi.

Elafibranor è un agonista duale per i recettori PPAR- α e δ coinvolti nel catabolismo degli acidi grassi e nel loro utilizzo da parte delle cellule muscolari. Analogamente all'acido obeticoico, anche elafibranor ha avuto approvazione per la terapia della colangite biliare primaria. Il possibile rationale per il suo utilizzo nella NASH deriva dai risultati dello studio GOLDEN-505, un trial multicentrico di fase II in cui 276 pazienti adulti, non cirrotici,

con diagnosi di NASH confermata da biopsia epatica e NAS ≥ 3 sono stati randomizzati a ricevere un trattamento con elafibranor (alle dosi di 80 o 120 mg/die) vs. placebo per 52 settimane. Lo studio ha dimostrato che elafibranor, alla dose di 120 mg/die, è superiore al placebo (19% vs 12%) nel raggiungere l'obiettivo primario (risoluzione della NASH senza peggioramento della fibrosi), evidente soprattutto nei pazienti che partivano da una condizione clinica peggiore (20% vs 11%, $p=0,018$). Va tuttavia sottolineato che tali risultati sono stati ottenuti da analisi post-hoc, eseguite dopo aver modificato le definizioni di risposta clinica (le analisi originali *intention-to-treat* non avevano, invece, evidenziato differenze significative tra trattamento attivo e placebo); inoltre, in alcuni pazienti è stato osservato un incremento reversibile dei valori di creatinina sierica.

Selonsertib è un inibitore selettivo della chinasi 1 che regola il segnale dell'apoptosi (ASK1, nota anche come *mitogen-activated protein kinase 5*), un enzima coinvolto nelle vie biochimiche che regolano i processi di apoptosi, fibrosi, lipogenesi ed il rilascio di citochine pro-infiammatorie in presenza di aumento dello stress ossidativo caratteristico della NASH e associato alla sua patogenesi.

Studi sperimentali e sperimentazioni *proofs of concept* in un numero limitato di pazienti hanno dimostrato che selonsertib riduce gli indici infiammatori e l'apoptosi degli epatociti, fornendo un forte razionale per l'utilizzo di questo farmaco nella NASH. Un trial randomizzato multicentrico di fase II ha recentemente dimostrato che selonsertib (alle dosi di 6 o 18 mg/die con o senza simtuzumab) è superiore rispetto al solo simtuzumab (43% alla dose di 18 mg vs 30% alla dose di 6 mg vs 20% nel gruppo simtuzumab) nel raggiungere l'obiettivo primario (riduzione di uno o più stadi di fibrosi) così come la progressione vs. la fibrosi (3% vs 7% vs 20%). Va sottolineato che i pazienti inclusi in questo studio avevano un NAS ≥ 5 . Il trattamento si è dimostrato

ben tollerato (gli eventi avversi farmaco-relati osservati più frequentemente sono stati astenia, cefalea e nausea).

Attualmente sono in corso due studi di fase III volti a confermare l'efficacia di selonsertib nel paziente con NASH: il primo (STELLAR-3) coinvolge pazienti con fibrosi F3, mentre il secondo (STELLAR-4) ha come target i pazienti con cirrosi compensata. Vi sono inoltre in corso studi di fase II in cui selonsertib è associato ad altri farmaci con lo scopo di trattare pazienti con NASH e fibrosi di grado avanzato (si veda oltre).

Oltre a quelli sopracitati, nel sito ClinicalTrials.gov è presente anche un trial di fase III, attualmente però sospeso, volto a valutare l'efficacia di **metadoxina**, un antiossidante che dovrebbe agire da fonte di glutatione in grado di inibire la differenziazione degli adipociti, l'accumulo di lipidi a livello epatico e i processi di fibrosi. Tale farmaco si era dimostrato efficace in uno studio di fase II nel ridurre la steatosi senza però migliorare l'istologia epatica.

Farmaci in studi di fase II

Al momento della stesura del presente articolo (novembre 2018) sul sito ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov>) risultano in corso almeno 40 studi di fase II sulla terapia farmacologica della NASH che, complessivamente, riguardano una ventina di molecole diverse con target innovativi (riassunte in *Tabella 3*) più altri farmaci appartenenti a classi terapeutiche già note (ipoglicemizzanti, antiipertensivi, ecc.). Di seguito verranno brevemente descritte le terapie innovative per cui esistono almeno evidenze preliminari, relative ad analisi ad *interim* e/o a risultati presentati a congressi scientifici, anche se non ancora disponibili di pubblicazione in forma estesa (per un approfondimento della tematica si rimanda alla bibliografia essenziale).

Aramchol è un coniugato dell'acido colico e arachidonico in grado di influenzare attivamente la lipogenesi attraverso l'upregolazione di ABCA1, proteina coinvolta nel trasporto inverso

del colesterolo e l'inibizione di stearyl-coenzima A desaturasi, enzima coinvolto nella biosintesi di acidi grassi monoinsaturi a livello epatico. Uno studio pilota condotto in 60 pazienti con NAFLD (di cui solo 6 con NASH) ha evidenziato un miglioramento significativo nel contenuto di grassi a livello epatico, fornendo il razionale per uno studio di fase IIb in pazienti con diabete/prediabete randomizzati a trattamento con aramchol (400 o 600 mg/die) vs. placebo per 52 settimane. Tale studio risulta concluso e si attendono i risultati entro la fine del 2018.

Emricasan è un inibitore di diverse isoforme di caspasi che si è dimostrato in grado di ridurre l'ipertensione portale bloccando i processi infiammatori e pro-apoptotici responsabili della morte cellulare programmata degli epatociti. Attualmente vi sono in corso diversi studi di fase IIa e IIb volti a valutare il possibile ruolo di emricasan (a dosi variabili da 5 a 50 mg/die) in pazienti con NASH.

NGM282 è un analogo ingegnerizzato del fattore di crescita dei fibroblasti-19 (FGF19) che, interagendo con i recettori FGF 1c e 4, è in grado di ridurre la steatosi e la lipotossicità. Nel mese di ottobre 2018 sono stati pubblicati su *Lancet* i risultati di uno studio di fase II che ha coinvolto 82 pazienti con NASH e NAS ≥ 4 randomizzati a trattamento con NGM282 sottocute (alla dose di 3 o 6 mg) o placebo per 12 settimane, con obiettivo primario la variazione nel contenuto di grassi nel fegato (valutato con RMN) rispetto alla valutazione basale. A 12 settimane, rispettivamente il 74% e il 79% dei pazienti trattati con NGM282 aveva ottenuto almeno il 5% di riduzione nel contenuto di grassi, rispetto al 7% dei pazienti trattati con placebo. Gli eventi avversi più comuni nel braccio con il farmaco attivo sono stati reazione infiammatoria nel sito di iniezione, diarrea, dolori addominali e nausea. Non vi sono al momento informazioni su studi di fase III per questo farmaco.

BMS-986036 è un analogo peghilato di FGF-21 che si è dimostrato in grado di ridurre i processi di steatosi epatica e fibrotici con effetti positivi anche sull'insulino-resistenza in soggetti diabetici obesi. I risultati preliminari di uno studio di fase II in pazienti non cirrotici, con NASH confermata da biopsia epatica, diabete e BMI >25 kg/m² hanno evidenziato una riduzione significativa nel contenuto di grassi a livello epatico associata ad un miglioramento dei livelli di lipidi circolanti e della *stiffness* epatica dopo 16 settimane di trattamento attivo rispetto a placebo.

In studi *proofs of concept*, **MGL-3196**, un agonista β -selettivo del recettore dell'ormone tiroideo (THR), si è dimostrato capace di migliorare il profilo lipidico e di ridurre l'accumulo di grasso a livello epatico in pazienti con NASH. Recentemente, sono stati presentati i risultati di uno studio di fase II randomizzato, multicentrico (25 centri in USA), in doppio cieco, controllato con placebo e multicentrico che ha arruolato 125 pazienti di età pari o superiore a 18 anni con NASH confermata dalla biopsia epatica. Lo studio ha evidenziato che il 56% dei pazienti nel gruppo MGL-3196 aveva una riduzione di oltre due punti nel NAS rispetto al 32% nel braccio placebo dopo 36 settimane. Nei pazienti che hanno risposto al trattamento dopo 12 settimane, la riduzione di oltre due punti del NAS si è osservata in circa il 70% di essi. MGL-3196 è risultato ben tollerato: sono stati registrati 7 eventi avversi di grado severo ma nessuno è risultato correlato al farmaco ed episodi frequenti di diarrea transitoria che non hanno però richiesto la sospensione della terapia.

A novembre 2018, in occasione del *The Liver Meeting* di San Francisco sono stati presentati i risultati di uno studio di fase II in cui **GS-9674**, un agonista non biliare di FXR, somministrato alla dose di 100 mg/die per 24 settimane è stato in grado di

ridurre del 30% il contenuto di grassi a livello epatico in circa il 40% dei pazienti trattati (vs 13% in quelli che hanno ricevuto placebo). È importante sottolineare che gli agonisti non biliari di FXR (come GS-9674 e tropifexor), grazie alla loro maggiore affinità per i recettori FXR intestinali, sono caratterizzati da una minor incidenza di eventi avversi quali prurito, aumento LDL ed enzimi epatici rispetto a quanto osservato con gli agonisti biliari di FXR (come l'acido obeticoico).

Altrettanto interessanti sono i risultati di uno studio *proof-of-concept* presentato all'*International Liver Congress 2018* di Parigi che ha incluso 70 pazienti trattati con selonsertib (18 mg) associato a GS-9674 (30 mg) e/o GS-0976 (20 mg), un inibitore dell'acetil-CoA carbossilasi (ACC), enzima coinvolto nella lipogenesi che up-regola il consumo del grasso nel fegato attraverso la β -ossidazione. Dopo 12 settimane di trattamento, le maggiori variazioni si sono osservate nella riduzione del contenuto di grassi nel fegato verificatasi nei regimi contenenti GS-0976. In entrambi i bracci di combinazione sono stati osservati anche dei miglioramenti, rispetto al basale, nella funzione epatica e/o nei marcatori di fibrosi. Sulla base di questi promettenti risultati è stato avviato un ampio studio di Fase Ib (ATLAS) sul trattamento di combinazione selonsertib e/o GS-0976 e/o GS-9674 che coinvolgerà circa 350 pazienti con fibrosi avanzata dovuta alla NASH trattati per 52 settimane.

CONCLUSIONI

In un contesto come quello attuale, dove le uniche opzioni terapeutiche per i pazienti con NASH sono rappresentate da terapie volte a controllare principalmente i fattori di rischio (diabete, obesità e dislipidemia) e gli stili di vita, ma non direttamente la patologia, è sicuramente positivo vedere come la ricerca farmacologica in questo ambito sia estremamente attiva, con decine

TABELLA 3 - *Trials di fase II attualmente in corso con terapie farmacologiche per la NASH. Fonte: ClinicalTrials.gov.*

<i>Farmaco</i>	<i>Meccanismo d'azione</i>	<i>Trial ID</i>
NGM282	Analogo del fattore di crescita dei fibroblasti-19	NCT02443116
BMS-986036	Analogo peghilato del fattore di crescita dei fibroblasti-21	NCT02413372
Emricasan	Inibitore delle caspasi	NCT02686762
Aramchol	Inibitore di stearyl coenzima A desaturasi 1	NCT02279524
MGL-3196	Agonista β -selettivo del recettore dell'ormone tiroideo	NCT02912260
Volixibat	Inibitore del trasportatore apicale degli acidi biliari e del sodio	NCT02787304
GS-9674	Agonista del recettore farnesoide X	NCT02854605
Semaglutide	Analogo del glucan-like peptide	NCT02970942
Saroglitazar	Agonista dei recettori attivati da proliferatori perossisomiali α/γ	NCT03061721
LMB763	Agonista del recettore farnesoide X	NCT02913105
IVA337	Pan-Agonista dei recettori attivati da proliferatori perossisomiali	NCT03008070
Tropifexor	Agonista del recettore farnesoide X	NCT02855164
CF102	Agonista selettivo dei recettori adenosinici A3	NCT02927314
MT-3995	Antagonista recettore mineralcorticosteroidi	NCT02923154
Tipelukast	Antagonista recettore leukotriene, phosphodiesterases, lipoxygenase	NCT02681055
MSDC-0602K	modulatore dei recettori attivati da proliferatori perossisomiali gamma	NCT02784444
JKB-121	Antagonista dei recettori toll-like 4	NCT02442687
IMM-124E	Modulatore del microbioma intestinale	NCT02316717
ARI-3037MO	Analogo dell'acido nicotinico	NCT02574325
GS-0976	Inibitore dell'acetil coenzima A carbossilasi	NCT02856555
BI1467335	inibitore dell'adesione e infiltrazione dei leucociti	NCT03166735
Simtuzumab	Anticorpo anti oxidase-like protein 2	NCT01672866
PF-05221304	Inibitore dell'acetil coenzima A carbossilasi	NCT03248882

di molecole in fase di studio, la maggior parte delle quali già in sperimentazione clinica. Tra queste, almeno 4 sono in fase III; ciò vuol dire che, se questi studi confermeranno i risultati positivi di quelli di fase II, nei prossimi 5 anni avremo a disposizione le prime terapie mirate per il trattamento del paziente con NASH. Nel medio termine (5-10 anni) l'armamentario terapeutico potrebbe ulteriormente arricchirsi di nuovi farmaci in grado di agire su processi biochimici diversi (metabolismo lipidico, infiammazione, fibrosi, ecc.) e con svariati meccanismi d'azione. In tal modo si potranno selezionare i farmaci migliori nel singolo paziente (se le procedure diagnostiche evolveranno in modo tale da permettere un'identificazione rapida del processo biochimico principalmente alterato caso per caso) oppure utilizzare le più svariate combinazioni *ad hoc* per il trattamento dei pazienti più gravi e complicati. Naturalmente tutto ciò richiede una verifica attenta del profilo di sicurezza a lungo termine delle molecole attualmente in fase di studio e l'identificazione di biomarcatori specifici in grado di permettere un monitoraggio "fine" della loro efficacia.

BIBLIOGRAFIA

1. Black D, Brockbank S, Cruwys S, Goldenstein K, Hein P, Humphries B. The future R&D landscape in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Drug Discov Today*. 2018 [Epub ahead of print].
2. Caldwell S. NASH Therapy: omega 3 supplementation, vitamin E, insulin sensitizers and statin drugs. *Clin Mol Hepatol*. 2017; 23: 103-108.
3. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018; 67: 328-357.
4. Connolly JJ, Ooka K, Lim JK. Future Pharmacotherapy for Non-alcoholic Steatohepatitis (NASH): Review of Phase 2 and 3 Trials. *J Clin Transl Hepatol*. 2018; 6: 264-275.

5. European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016; 64: 1388-1402.
6. Fiorucci S, Biagioli M, Distrutti E. Future trends in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Pharmacol Res.* 2018; 134: 289-298.
7. Ilan Y. Analogy between non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and hypertension: a stepwise patient-tailored approach for NASH treatment. *Ann Gastroenterol.* 2018; 31: 296-304.
8. Konerman MA, Jones JC, Harrison SA. Pharmacotherapy for NASH: Current and emerging. *J Hepatol.* 2018; 68: 362-375.
9. Lazaridis N, Tsochatzis E. Current and future treatment options in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 11: 357-369.
10. Musso G, Cassader M, Gambino R. Non-alcoholic steatohepatitis: emerging molecular targets and therapeutic strategies. *Nat Rev Drug Discov.* 2016; 15: 249-274.
11. Nouredin M, Anstee QM, Loomba R. Review article: emerging anti-fibrotic therapies in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016; 43: 1109-1123.
12. Oseini AM, Sanyal AJ. Therapies in non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int.* 2017; 37 (Suppl. 1): 97-103.
13. Perazzo H, Dufour JF. The therapeutic landscape of NASH. *Liver Int.* 2017; 37: 634-647.
14. Serfaty L. Management of patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in real life. *Liver Int.* 2018; 38 (Suppl. 1): 52-55.
15. Sumida Y, Yoneda M. Current and future pharmacological therapies for NAFLD/NASH. *J Gastroenterol.* 2018; 53: 362-376.
16. Wong VW, Adams LA, de Lédinghen V, et al. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018; 15: 461-478.
17. Wu R, Nakatsu G, Zhang X, Yu J. Pathophysiological mechanisms and therapeutic potentials of macrophages in non-alcoholic steatohepatitis. *Expert Opin Ther Targets.* 2016; 20: 615-626.

La realizzazione del presente documento è stata resa possibile grazie alla sponsorizzazione non condizionante di Gilead Sciences



