

# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI VERONA

*DIPARTIMENTO DI MEDICINA*

*SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE DELLA VITA E DELLA SALUTE*

*DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE BIOMEDICHE CLINICHE E SPERIMENTALI*

CICLO /ANNO XXXIII/2017

## STEATOEPATITE NON ALCOLICA E FIBROSI EPATICA IN UNA CASISTICA DI PAZIENTI OBESI SOTTOPOSTI A CHIRURGIA BARIATRICA

**S.S.D. MED 13 - Endocrinologia**

Coordinatore: Prof. Giovanni Targher



Firma

Tutor: Prof. Giovanni Targher



Firma

Dottorando: Dott.ssa Anna Altomari

Firma 



## ABSTRACT

**Obiettivi dello studio:** Valutare la prevalenza di epatopatia steatosica non alcolica (NAFLD) ed in particolare di steatoepatite non alcolica (NASH) e fibrosi epatica in pazienti con obesità grave, che sono candidati ad intervento di chirurgia bariatrica. E' stato inoltre valutato l'andamento delle transaminasi plasmatiche, adiponectina e di alcuni scores non invasivi di fibrosi epatica avanzata dopo 6 e 12 mesi dall'intervento chirurgico.

**Popolazione e Metodi:** Abbiamo studiato un campione di 28 pazienti affetti da obesità grave (75% donne, età mediana 41 anni, BMI mediano 45 kg/m<sup>2</sup>), che sono stati sottoposti ad intervento in elezione di sleeve gastrectomy (19 pazienti) o bypass gastrico (9 pazienti). In tutti i pazienti sono stati eseguiti accertamenti metabolici (incluso 2-h clamp euglicemico iperinsulinemico) al baseline ed è stata eseguita una biopsia epatica durante l'intervento chirurgico. Nessuno di questi pazienti aveva un eccessivo consumo di alcoolici né una precedente storia di cirrosi e/o altre epatopatie croniche note.

**Risultati:** Dei 28 pazienti inclusi nello studio, 16 (57%) hanno soddisfatto i criteri istologici per una diagnosi di NASH, mentre i restanti 12 (43%) pazienti non avevano NASH al baseline. Di questi 12 pazienti privi di NASH alla biopsia, 8 pazienti avevano steatosi macrovescicolare di grado lieve o severo (NAFL), mentre solo 4 pazienti (pari al 14.3% del campione totale) erano esenti da NAFLD alla biopsia epatica. Per quanto riguarda il grado di fibrosi epatica, 4 pazienti (14.3%) non avevano fibrosi (stadio F0), 14 (50%) pazienti avevano fibrosi moderata (F2) e 10 (35.7%) avevano "bridging fibrosis" (F3). Nessuno dei pazienti aveva cirrosi epatica precedentemente misconosciuta (F4). Quando i pazienti venivano suddivisi sulla base della presenza/assenza di NASH e/o della severità di fibrosi epatica (F3 vs. F0-2), i due gruppi di pazienti erano comparabili per età, sesso e le principali variabili biochimiche esaminate, incluso transaminasi, APRI index, FIB-4 score e sensibilità insulinica (M-clamp). L'intervento chirurgico induceva, sia dopo 6 che 12 mesi, un marcato calo ponderale ed una

significativa riduzione dei livelli circolanti di adiponectina in entrambi i gruppi. Al contrario, i valori di transaminasi e gli scores non invasivi di fibrosi epatica avanzata non hanno mostrato alcuna significativa variazione dopo 6 e 12 mesi dall'intervento chirurgico in nessuno dei gruppi di pazienti considerati (NASH vs. no-NASH e F3 vs. F0-2).

**Conclusioni:** Nei nostri pazienti con obesità grave, candidati a chirurgia bariatrica, la NAFLD è una patologia assai comune (essendo presente in circa 85% del campione) ed è già presente anche nelle sue forme istologiche più severe (NASH nel 57% dei casi e fibrosi avanzata nel 35.7% dei casi), pur rimanendo queste forme spesso clinicamente silenti (o pauci-sintomatiche) e senza accompagnarsi a significative alterazioni delle transaminasi circolanti e degli scores non-invasivi di fibrosi avanzata. Questi dati suggeriscono la necessità di una diagnosi precoce e tempestiva delle forme più severe della NAFLD (che sono quelle associate ad un maggior rischio di progressione verso la cirrosi e l'epatocarcinoma) in tutti i soggetti obesi che vengono sottoposti a chirurgia bariatrica (da eseguirsi almeno in fase intra-operatoria).

## **INDICE**

<b>INDICE</b> .....	5
<b>1 INTRODUZIONE</b> .....	6
<b>1.1 NAFLD (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease)</b> .....	6
<b>1.1.1 DEFINIZIONE E PREVALENZA</b> .....	6
<b>1.1.2 PATOGENESI E STORIA NATURALE</b> .....	9
<b>1.1.3 DIAGNOSI</b> .....	14
<b>1.1.4 TRATTAMENTO</b> .....	17
<b>1.2 NAFLD ED OBESITA'</b> .....	20
<b>1.3 NAFLD ED ADIPONECTINA</b> .....	26
<b>1.4 CHIRURGIA BARIATRICA</b> .....	28
<b>1.4.1 SLEEVE GASTRECTOMY</b> .....	29
<b>1.4.2 BYPASS GASTRICO</b> .....	31
<b>1.5 CHIRURGIA BARIATRICA E NAFLD</b> .....	33
<b>1.6 CHIRURGIA BARIATRICA ED ADIPONECTINA</b> .....	35
<b>2 OBIETTIVI DELLO STUDIO</b> .....	37
<b>3 MATERIALI E METODI</b> .....	38
<b>3.1 ANALISI STATISTICA</b> .....	43
<b>4 RISULTATI</b> .....	44
<b>5 DISCUSSIONE</b> .....	47
<b>6 CONCLUSIONI</b> .....	53
<b>7 BIBLIOGRAFIA</b> .....	54
<b>8 FIGURE E TABELLE DELLO STUDIO</b> .....	67

# 1 INTRODUZIONE

## 1.1 NAFLD (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease)

### 1.1.1 DEFINIZIONE E PREVALENZA

La epatopatia steatosica non alcolica (NAFLD) è attualmente l'epatopatia cronica di più frequente riscontro nella popolazione adulta dei Paesi occidentali [1].

La NAFLD è definita dalla presenza all'esame istologico di steatosi in più del 5% degli epatociti, in assenza di un consumo eccessivo di alcol (convenzionalmente definito  $\geq 30$  g al giorno per gli uomini e  $\geq 20$  g al giorno per le donne) e/o di altre cause note di steatosi epatica (virus, sovraccarico di ferro, uso cronico di alcuni farmaci epatotossici, ecc) [2]. La NAFLD è spesso associata a sovrappeso/obesità, diabete mellito tipo 2 ed altre alterazioni tipiche della sindrome metabolica (**Figura 1**).

Dal punto di vista istopatologico, la NAFLD include una gamma di patologie epatiche che possono essere classificate come:

- steatosi epatica semplice (NAFL), caratterizzata dalla presenza di steatosi in  $>5\%$  degli epatociti senza infiammazione e/o danno epatocitario (balloning degli epatociti)
- steatoepatite (NASH), definita come steatosi epatica e infiammazione con danno epatocitario (*balloning* degli epatociti) con o senza presenza di fibrosi [2]

La NASH può progredire in cirrosi e, talora, in epatocarcinoma (HCC) (**Figura 1**). Attualmente, la NASH è considerata come la causa in più rapido aumento di HCC che insorge nei candidati al trapianto epatico [3]. Inoltre, è anche noto che la NAFLD si associa significativamente ad un aumentato rischio cardiovascolare (considerato che la malattia cardiovascolare rappresenta ad oggi la principale causa di morte dei pazienti affetti da NAFLD/NASH) [4] ed ad un maggiore rischio di sviluppare malattia renale cronica (CKD), indipendentemente dalla coesistenza di altri fattori di rischio cardiometabolico [5].

Una ampia meta-analisi, condotta nel 2016, ha stimato che l'incidenza della NAFLD in Asia è di circa 50 per 1.000 persone-anno, mentre l'incidenza nei Paesi

occidentali è di circa 25 per 1.000 persone-anno. La stessa meta-analisi ha inoltre stimato che l'incidenza della fibrosi avanzata nei pazienti con NASH è di circa 68 per 1.000 persone-anno, mentre il tasso di incidenza di HCC è circa 0.5 per 1.000 persone-anno nei pazienti con NAFLD ed oltre 5 per 1.000 persone-anno in quelli con NASH [6].

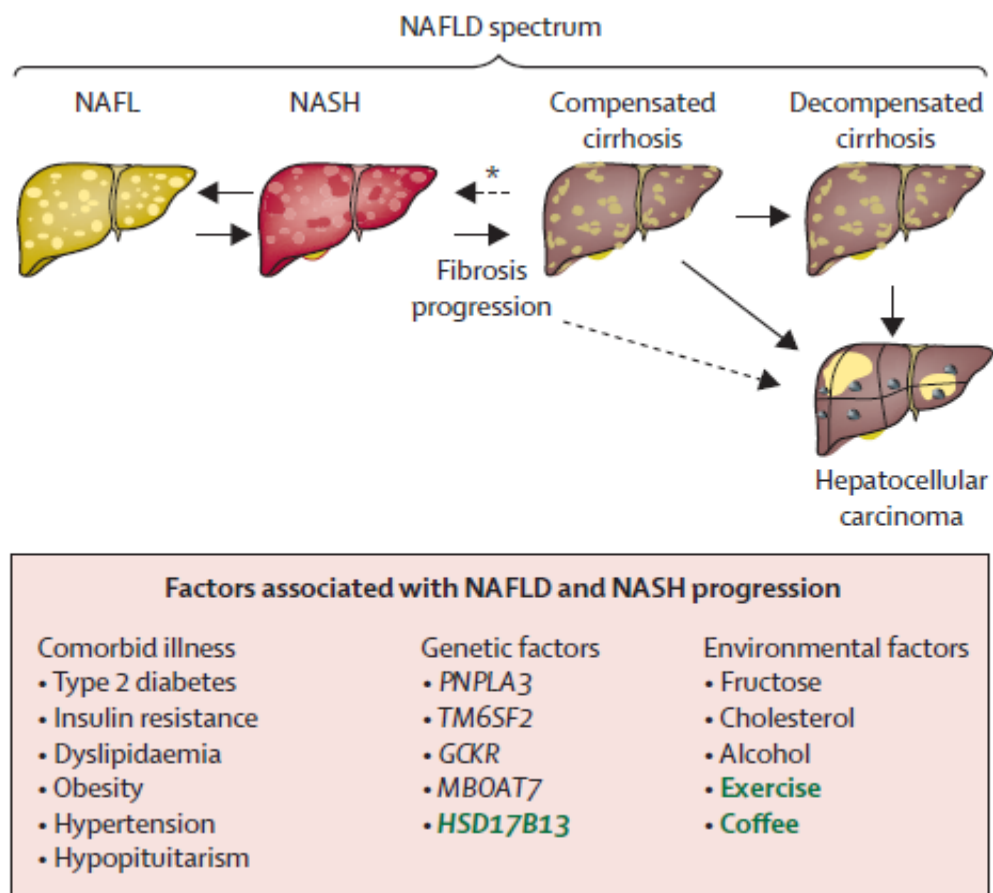
La prevalenza globale della NAFLD (diagnosticata mediante ecografia od altre metodiche radiologiche) nella popolazione generale è di circa il 25% con una prevalenza più alta in Medio Oriente (32%) e Sud America (30%) e più bassa in Africa (14%). Per quanto riguarda invece la NASH, la sua prevalenza nella popolazione generale è più difficile da stimare sulla base degli studi disponibili, poiché la diagnosi della NASH necessita dell'uso della biopsia epatica. Pur tuttavia, è stato stimato che la prevalenza globale della NASH nella popolazione generale si aggiri attorno al 3-4%. Tuttavia, tra i pazienti con NAFLD, la prevalenza di NASH, diagnosticata mediante biopsia epatica, è stata stimata intorno al 60%, in presenza di sintomi clinici e rialzo delle transaminasi, ed attorno al 10-30% in assenza di sintomi clinici e con normalità delle transaminasi. Tra i pazienti con NASH, circa il 40% sviluppa fibrosi avanzata nel corso tempo, con un tasso medio annuo di progressione della fibrosi di circa 0,1% [6].

Come accennato in precedenza, la NAFLD è frequentemente associata a molteplici fattori di rischio cardiometabolico, tra cui sovrappeso/obesità addominale, diabete mellito tipo 2, dislipidemia aterogena ed ipertensione arteriosa [3]. La maggior parte di queste condizioni sono tipicamente presenti nella sindrome metabolica [7]. Circa il 50% dei pazienti con NAFLD e l'80% dei pazienti con NASH sono obesi [6]. Pertanto, sovrappeso ed obesità sono degli importanti fattori di rischio per la NAFLD [8]. Anche i pazienti con diabete tipo 2 hanno una prevalenza di NAFLD molto elevata, con due recenti meta-analisi che hanno suggerito che la prevalenza della NAFLD nei pazienti con diabete tipo 2 sia complessivamente del 55-60% [9]. In maniera analoga, anche le prevalenze della NASH e della fibrosi avanzata sono particolarmente elevate nella popolazione con diabete tipo 2. In una recente ed ampia meta-analisi è stato stimato che la prevalenza globale della NASH tra i pazienti con diabete tipo 2 sia attorno al 35-40%, mentre quella della fibrosi avanzata è attorno al 15-20% [10]. Al contrario,

le prevalenze di ipertensione, dislipidemia e sindrome metabolica nei pazienti con NAFLD e NASH variano rispettivamente tra circa il 40% ed il 70%, mentre la prevalenza del diabete tipo 2 nei pazienti con NAFLD/NASH si aggira attorno al 20% [6].

Per quanto riguarda i fattori etnici, in un ampio studio americano (NHANES-III) è stato riportato che la NAFLD (diagnosticata mediante ecografia) colpisce circa il 45% degli ispanici, il 30% dei caucasici e circa il 25% delle persone di origine africana. La NAFLD risulta inoltre più comune negli uomini che nelle donne tra i caucasici, mentre è similmente distribuita tra i due sessi nella popolazione nera e ispanica [11]. E' stato inoltre dimostrato che la prevalenza di NAFLD e la sua severità aumentano progressivamente con l'avanzare dell'età, raggiungendo un picco nell'età compresa tra i 45 e 64 anni [12].

**Figura 1. Spettro della NAFLD**



In nero sono rappresentati i fattori che hanno un'associazione consolidata con la progressione della NAFLD e della NASH (classificati in malattie concomitanti, fattori genetici e fattori ambientali). In verde i fattori protettivi.[137]

NAFL = Steatosi epatica semplice. NAFLD = steatosi epatica non alcolica.

NASH = steatoepatite non alcolica. \* Regressione della fibrosi.



### 1.1.2 PATOGENESI E STORIA NATURALE

La NAFLD è definita istologicamente dall'accumulo di grasso, principalmente sotto forma di trigliceridi (TG), all'interno degli epatociti. I TG depositati nel fegato sono derivati da acidi grassi liberi (FFA) che provengono da tre fonti principali: FFA della dieta, FFA rilasciati dalla lipolisi periferica del tessuto adiposo e FFA prodotti dalla lipogenesi epatica de novo, che favorisce la sintesi degli FFA all'interno degli epatociti, utilizzando altri substrati alternativi, ad es. carboidrati.

Negli epatociti, gli FFA, tramite la acil-CoA sintetasi, vengono trasformati in acil-CoA grassi, che vengono successivamente utilizzati per loro esterificazione con il glicerolo; in alternativa, se è necessaria maggiore energia negli epatociti, gli acil-CoA grassi vengono ossidati a livello mitocondriale ( $\beta$ -ossidazione) [13]. Quando vi è un eccesso di FFA negli epatociti, la capacità di  $\beta$ -ossidazione si satura, e può quindi verificarsi un processo di perossidazione lipidica [8]. Il risultato di questo processo è la aumentata produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), che danneggiano il DNA e promuovono ulteriormente la perossidazione e l'infiammazione dei lipidi e proteine [14]. L'eccessivo accumulo di TG negli epatociti ostacola anche l'attività della proteina di trasferimento dei trigliceridi microsomiali (MTTP), un enzima che promuove il trasporto e l'esportazione dei TG epatici alle particelle VLDL. Ciò può verificarsi, seppur più raramente, anche a causa di mutazioni specifiche nel gene MTTP e/o come conseguenza dell'uso di alcuni farmaci [15].

Quando gli epatociti non sono più in grado di smaltire l'eccessivo afflusso di TG, la lipotossicità, la generazione di ROS, l'infiammazione e la disfunzione epatocitaria provocano lo sviluppo della NASH [16]. L'infiammazione cronica di lunga durata con associato stress ossidativo, danno al DNA ed apoptosi favoriscono anche un aumento della fibrogenesi epatica, che causa la progressione della NAFLD verso la fibrosi avanzata, cirrosi e, in taluni casi, HCC. Vari fattori, come la predisposizione genetica e le alterazioni epigenetiche, gli stimoli anabolici, le modificazioni delle adipochine, le modificazioni del microbiota intestinale possono essere implicati nella progressione della NAFLD da steatosi

semplice alle forme di epatopatia più avanzate, mentre l'attivazione delle cellule stellate (HSCs) è considerato un evento chiave nella eziopatogenesi della fibrosi epatica [17]. In particolare, in base all'ipotesi del "*parallel multiple-hit model*", vari fattori di rischio come obesità, stile di vita sedentario, dieta ricca di grassi, insulino-resistenza, accumulo di lipidi epatici ed alterazioni del microbiota intestinale possono agire contemporaneamente ed in maniera sinergica, portando allo sviluppo di steatosi, infiammazione e fibrosi epatica [18] (**Figura 2**). Una dieta ricca di carboidrati e/o grassi porta frequentemente all'iperaccumulo di grasso nel fegato, fornendo il punto di partenza della patogenesi della NAFLD [19].

Il tessuto adiposo è considerato un importante organo endocrino, che è in grado di produrre e secernere molteplici adipochine, come adiponectina e leptina, e citochine pro-infiammatorie, come l'interleuchina-6 (IL-6) ed il fattore di necrosi tumorale- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [20]. L'adiponectina esercita attività insulino-sensibilizzanti, anti-infiammatorie ed anche effetti anti-fibrotici, sopprimendo la produzione di citochine pro-infiammatorie principalmente attraverso l'inibizione del fattore nucleare  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) [21]. Ridotti livelli di adiponectina sono frequentemente associati all'obesità ed alla severità della NAFLD [22].

La leptina stimola l'ossidazione degli FFA e l'uptake del glucosio ed è in grado di prevenire l'accumulo degli FFA nel fegato, riducendo l'espressione di SREBP-1 [23]. Contrariamente all'adiponectina, i livelli di leptina sono positivamente associati all'obesità ed alla severità della NAFLD [24].

L'obesità porta ad ipertrofia degli adipociti che, diventando disfunzionali, producono e rilasciano in circolo un eccesso di citochine pro-infiammatorie con riduzione di quelle anti-infiammatorie e inducendo di conseguenza nel fegato una condizione di infiammazione cronica di basso grado [20].

Un fattore chiave nella patogenesi della NAFLD è l'insulino-resistenza sistemica (IR), che induce, tra l'altro, una aumentata lipolisi nel tessuto adiposo con conseguente aumentato afflusso epatico di FFA [13]. Inoltre, l'IR promuove la lipogenesi epatica de novo, con conseguente ulteriore accumulo di TG nel fegato [25]. L'IR è anche strettamente associata alla resistenza alla leptina, che si

incontra comunemente negli individui obesi, ed all'infiltrazione epatica di macrofagi che producono citochine pro-infiammatorie [26].

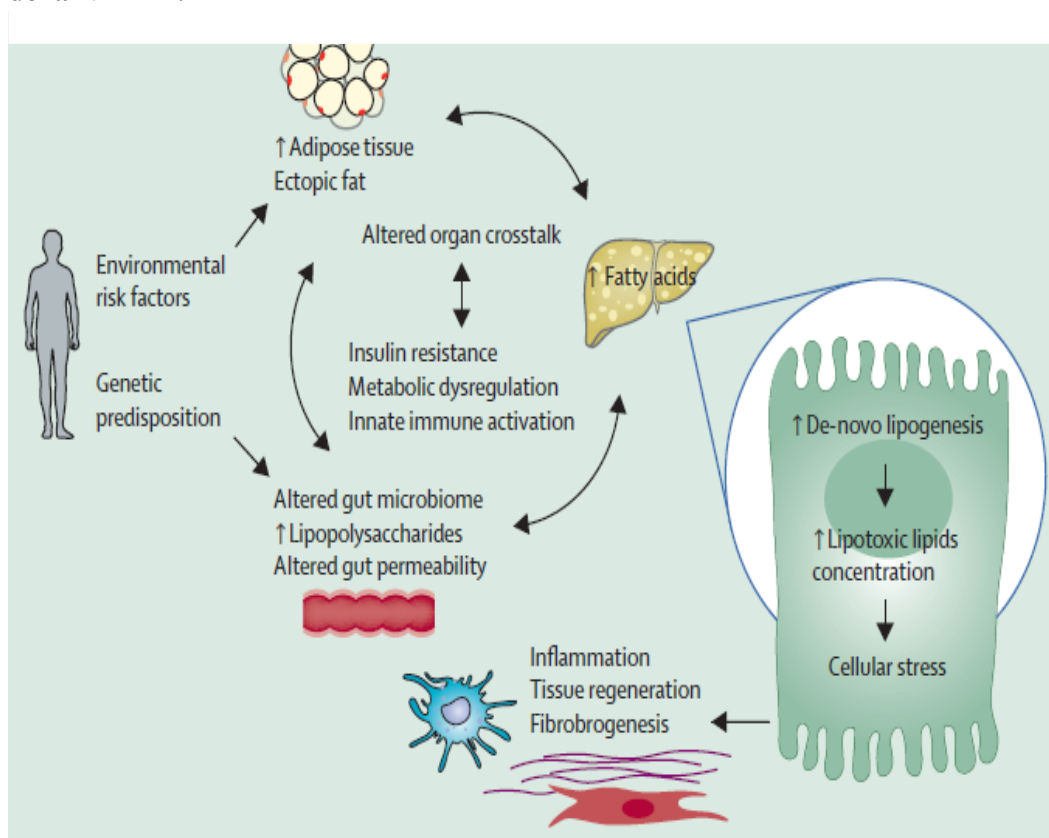
La presenza di un microbioma gastrointestinale alterato può rendere l'intestino tenue più permeabile, favorendo tra l'altro un aumentato assorbimento intestinale di FFA. L'aumento della permeabilità intestinale porta anche alla migrazione batterica attraverso la barriera epiteliale intestinale, con successivo rilascio di lipopolisaccaridi, prodotti batterici tossici e citochine pro-infiammatorie, quali IL-6 e TNF- $\alpha$ , che potenziano ulteriormente la presenza di una infiammazione cronica sistemica di basso grado [27]. Il microbiota intestinale può anche modificare il metabolismo degli acidi biliari e contribuire alla patogenesi della NAFLD attraverso l'attivazione del recettore X farnesoide (FXR) che, a sua volta, determina l'attivazione di diverse pathways con conseguente alterazione dell'omeostasi del metabolismo lipidico e glucidico [28].

La predisposizione genetica può aumentare ulteriormente l'effetto deleterio dei suddetti fattori di rischio sullo sviluppo della NAFLD, attraverso la modulazione ed espressione di molteplici geni, che promuovono la disfunzione epatocellulare, l'iperaccumulo epatico di TG, l'infiammazione cronica, l'apoptosi e la fibrosi. I due principali geni i cui polimorfismi sono stati associati ad un aumentato rischio di sviluppo e progressione della NAFLD sono il *PNPLA3* (*patatin-like phospholipase domain-containing protein 3*) e *TM6SF2* (*trans-membrane 6 superfamily member 2*). *PNPLA3* codifica per l'adiponutrina, che è un enzima con attività di idrolasi dei TG, altamente espressa negli epatociti ed adipociti dove questa proteina è principalmente coinvolta nel rimodellamento dei TG e dei fosfolipidi in risposta all'alimentazione. In particolare, un polimorfismo comune in *PNPLA3*, rs738409 (I148 M), è stato fortemente associato ad un aumento del rischio di NAFLD, cirrosi e HCC [29]. Al contrario, il ruolo esatto del *TM6SF2* nella patogenesi della NAFLD non è ancora del tutto chiarito, ma è stato riportato che la variante rs58542926 (E167 K) è associata ad un aumento del contenuto di TG intraepatici e ad una ridotta secrezione di VLDL-C, che sono entrambe delle alterazioni in grado di favorire la comparsa di steatosi epatica [30].

Classicamente, si ritiene che i pazienti con NAFL hanno un basso rischio di progressione verso la NASH e la fibrosi. Tuttavia, recenti dati clinici derivati da

alcuni studi basati su biopsie epatiche ripetute nel tempo, hanno chiaramente dimostrato che circa il 20-25% dei pazienti con NAFL può progredire verso la NASH e la fibrosi avanzata. La coesistenza di un'inflammatione cronica ed il peggioramento dei coesistenti fattori di rischio metabolico aumentano sostanzialmente il rischio di progressione della NAFL verso le forme più avanzate di patologia epatica [31]. Tra i pazienti con NASH, la maggioranza di tali pazienti presenta una fibrosi epatica stabile (circa 40%) o una progressione della fibrosi (35%). Il tasso di progressione della fibrosi è piuttosto lento, ed è stato calcolato essere di 1 stadio di fibrosi in 14 anni di follow-up nei pazienti con NAFL e 1 stadio in 7 anni di follow-up nei pazienti con NASH. Tuttavia, è importante ricordare che sono state descritte importanti variazioni individuali, con alcuni pazienti che progrediscono più velocemente in relazione alla coesistenza di diversi fattori di rischio, tra cui fattori genetici, ambientali ed inerenti allo stile di vita [32]. Importanti fattori clinici di rischio di aumentata progressione della NAFL a NASH e cirrosi sono l'età avanzata (>45 anni), l'obesità, la sindrome metabolica, l'insulino-resistenza e la presenza di diabete mellito tipo 2 [33]. Tuttavia, solo una minoranza dei pazienti con NAFLD svilupperà complicanze epatiche severe nel corso della loro vita, di cui solo il 5-10% morirà per complicanze legate alla cirrosi e l'1-5% per HCC [6].

**Figura 2. Molteplici vie e interazioni tra diversi organi influenzano la patogenesi della NAFLD.**



Nel contesto di molteplici fattori di rischio ambientali e fattori genetici, il ‘crosstalk’ tra fegato, tessuto adiposo e intestino induce una infiammazione cronica sistemica ed insulino-resistenza, con conseguente aumento del deposito intra-epatico di grassi ed aumentata lipogenesi epatica de-novo. Questo alterato *milieu* metabolico porta anche alla formazione di lipidi lipotossici che contribuiscono allo stress cellulare con conseguente ulteriore stimolazione dell’infiammazione, rigenerazione dei tessuti ed aumentata fibrogenesi epatica, che sono processi in grado di favorire la progressione della NAFLD da steatosi semplice a NASH e cirrosi[137].

### 1.1.3 DIAGNOSI

La NAFLD è generalmente considerata una malattia clinicamente silente e/o paucisintomatica, quindi nella pratica clinica la sua diagnosi è spesso incidentale. È abbastanza comune infatti che la NAFLD venga diagnosticata mediante l'esecuzione di un imaging addominale (specialmente una ecografia), eseguito per altri motivi clinici.

Le tecniche di imaging, che sono state attualmente utilizzate per la diagnosi di NAFLD, sono l'ultrasonografia (US), la tomografia computerizzata (TC) e la risonanza magnetica (RMN). L'US è il metodo di prima scelta per la diagnosi di NAFLD in quanto è non invasivo, poco costoso e ripetibile; nel contesto della NAFLD, l'uso dell'US mostra un incremento dell'ecogenicità e del volume del parenchima epatico, con riduzione dell'ecogenicità dell'emidiaframma e perdita di chiarezza dei vasi [34]. Una meta-analisi ha riportato che la sensibilità dell'US è di circa 85% mentre la sua specificità è del 94% per la diagnosi di steatosi epatica di grado moderato-severo (>20-30% di infiltrazione di TG negli epatociti all'istologia) [35]. Inoltre, la diagnosi di steatosi mediante US è soggetta ad un'elevata variabilità inter-osservatore. Infine, US dimostra una sensibilità più bassa negli individui con obesità severa, che costituiscono una parte rilevante dei pazienti con NAFLD, a causa dell'interferenza del grasso addominale sottocutaneo [36]. La TC ha una accuratezza diagnostica per la steatosi epatica che è sostanzialmente comparabile a quella degli US, ma l'esposizione alle radiazioni è un inconveniente che ne riduce il suo esteso utilizzo nella pratica clinica. Inoltre, altre sostanze accumulate nel fegato, come il ferro, possono agire da confondenti ed influenzare la diagnosi [34]. La RMN è considerata un metodo di imaging molto accurato, ma costoso, per la stima qualitativa e quantitativa della steatosi epatica. La RMN è molto più sensibile degli US ed, in particolare quella associata a spettroscopia (MRS), può rilevare infiltrazioni di grasso intra-epatico anche <5%; tuttavia quest'ultima metodica ha costi ancora molto elevati e non è (facilmente) utilizzabile nella pratica clinica di routine [37].

Nel corso degli anni sono stati sviluppati anche degli scores non invasivi per la diagnosi di steatosi epatica, che combinano caratteristiche demografiche (età,

Sesso) con variabili antropometriche (indice di massa corporea [BMI], circonferenza della vita) ed alcuni esami del sangue (TG, insulina, aspartato aminotransferasi [AST], alanina aminotransferasi [ALT]). Tra questi scores rammentiamo il *fatty liver index* (FLI) [38], che viene calcolato mediante BMI, circonferenza della vita e livelli di trigliceridi e gamma-glutamyl-transferasi (GGT). Tale score si è dimostrato un fattore di rischio di aumentata mortalità totale e da cause epatiche [39]. Esistono anche altri scores non invasivi, come il NAFLD Fat Score (NAFLD-FS) e l'Hepatic Steatosis Index (HIS), che possono essere anch'essi utilizzati per la diagnosi di steatosi epatica, specie negli studi epidemiologici di popolazione (quando l'US non è utilizzabile su larga scala).

Alla luce della stretta correlazione tra severità della fibrosi epatica ed aumentato rischio di mortalità e di sviluppare complicanze epatiche ed extra-epatiche (tra cui la malattia cardiovascolare) è fondamentale nella pratica clinica stratificare il paziente con NAFLD in base alla severità della fibrosi epatica. L'invasività dell'esame biotico, che è necessario per definire con certezza la diagnosi di NASH e la severità della fibrosi, è tuttavia un fattore limitante che si scontra spesso con le caratteristiche cliniche latenti e/o paucisintomatiche della NAFLD. Per ovviare a ciò sono stati perfezionati, nel corso degli anni, diversi scores non invasivi per stimare la presenza di fibrosi avanzata, i principali dei quali sono il rapporto AST/ALT, il NAFLD fibrosis score (NFS), il FIB-4 score e l'APRI index [40].

Riguardo all'utilizzo della biopsia epatica per la diagnosi di NAFLD permangono ancora numerose controversie. Come abbiamo già accennato in precedenza, la biopsia epatica è l'unica metodica attualmente in grado di diagnosticare la NASH, ed è anche molto utile per formulare una prognosi a lungo termine e per valutare gli effetti benefici di un possibile intervento terapeutico nei trials clinici. La biopsia epatica rimane ad oggi il 'gold standard' per la diagnosi e la stadiazione della NAFLD, inclusa la fibrosi [3]. Tuttavia, tale metodica è costosa, non è ben accettata dai pazienti, è operatore dipendente, può essere soggetta ad errore di campionamento e comporta il rischio di alcune complicanze acute, come possibili sanguinamenti [37].

Nelle linee guida pubblicate dall'AASLD, la biopsia epatica rimane comunque suggerita nel caso di presenza di sindrome metabolica e di un alto livello di ferritina sierica nei pazienti con NAFLD, così come nei pazienti sospettati di avere una fibrosi avanzata sulla base degli scores non invasivi [3].

Per ovviare alla necessità di un '*grading*' della NASH che permetta di esprimere tale patologia in maniera semi-quantitativa anziché dicotomica (NASH vs. no NASH) e, in questo modo, facilitare la correlazione con altri parametri clinici e/o interventi terapeutici è stato perfezionato uno score istologico chiamato NAFLD activity score (NAS). Le componenti del NAS sono la steatosi epatica (con un punteggio 0–3 in base alla severità della steatosi), l'infiammazione lobulare (punteggio 0–3) ed il ballooning epatocitario (punteggio 0–2) (22). Allo stesso modo anche la fibrosi può essere stadiata mediante la biopsia epatica con un punteggio sequenziale di 5 stadi, che va da F0 (fibrosi assente) a F4 (cirrosi).

Come abbiamo già accennato in precedenza, gli stadi istologici della fibrosi epatica sono significativamente correlati con un aumentato rischio di mortalità e di sviluppare complicanze epatiche ed extra-epatiche. E' stato infatti riportato che tale rischio aumenta esponenzialmente con l'aumentare della severità istologica della fibrosi in modo che i tassi di mortalità per la NAFLD con fibrosi lieve (F1), moderata (F2), fibrosi avanzata ('bridging fibrosis') (F3) e cirrosi (F4) sono circa 1.5, 2.5, 3.5 e 6.5 volte maggiori rispetto ai pazienti con NAFLD che non hanno fibrosi epatica (F0) [41].



## 1.1.4 TRATTAMENTO

I pazienti con NAFLD hanno un aumento della mortalità totale rispetto ai pazienti senza NAFLD, principalmente a causa di malattie cardiovascolari, neoplasie extra-epatiche (specie gastrointestinali) e complicazioni epatiche [42].

La gestione della NAFLD si concentra sulla malattia del fegato, principalmente la fibrosi epatica, che rappresenta il principale fattore prognostico nella NAFLD, ma deve includere anche il trattamento delle comorbilità metaboliche associate come obesità, dislipidemia e diabete tipo 2 [43].

Il trattamento più importante ed efficace per la gestione della NAFLD è la perdita di peso attraverso le modifiche dello stile di vita [3]. Una dieta sana ed un'attività fisica regolare sono altamente raccomandate come misure di prima linea in tutti i pazienti con NAFLD [44]. In particolare, è stato riportato che gli interventi intensivi sullo stile di vita hanno migliorato la NAFLD, anche nei pazienti che non sono obesi e la perdita di peso ha migliorato la NAFLD sia nei pazienti magri che in quelli obesi [45]. La dieta e l'esercizio fisico dovrebbero essere adattati a ogni singolo paziente in modo da fornire benefici a lungo termine. Viene generalmente proposta una dieta a basso contenuto di grassi e carboidrati con restrizione calorica (deficit di 500-1000 kcal / giorno, per indurre una riduzione di peso di circa 0,5-1 kg / settimana). Una riduzione del peso corporeo del 5% è necessaria per il miglioramento della steatosi, ma è necessario una riduzione di circa 7-10% per migliorare anche l'infiammazione e la fibrosi epatica [46]. L'esercizio, sia aerobico che di resistenza, può portare a un miglioramento della NAFLD, anche senza una coesistente perdita di peso. Tuttavia, è ben noto nella pratica clinica che le modifiche allo stile di vita sono difficili da ottenere e, specialmente, da mantenere a lungo termine, il che rende la gestione farmacologica della NAFLD un'esigenza medica giustificata ma non ancora soddisfatta [8].

Attualmente, la terapia farmacologica dovrebbe essere principalmente riservata ai pazienti NAFLD, che hanno una malattia epatica più avanzata (NASH con fibrosi) [3]. Ad oggi, non esistono farmaci, che siano stati approvati dalle Agenzie regolatorie del farmaco per il trattamento specifico della NAFLD/NASH.

Poiché la NAFLD è collegata al diabete tipo 2, vari farmaci antidiabetici sono stati valutati e/o sono in fase di valutazione per il trattamento della NASH. I tiazolidinedioni (specie il pioglitazone), sono agonisti del recettore PPAR $\gamma$  che migliorano l'IR sistemica ed epatica, in parte aumentando l'espressione dell'adiponectina. I tiazolidinedioni hanno mostrato efficacia nel migliorare l'istologia epatica nei pazienti con NASH [47]. Tuttavia, l'uso del pioglitazone ha dimostrato a lungo termine di indurre moderato incremento ponderale (specie del tessuto adiposo sottocutaneo), ritenzione di liquidi e rischio di fratture non traumatiche nelle donne in postmenopausa. Studi recenti hanno valutato l'effetto degli inibitori del cotrasportatore sodio glucosio-2 (SGLT-2), che sono farmaci antidiabetici che riducono l'iperglicemia attraverso l'inibizione del riassorbimento del glucosio a livello del tubulo renale e inducono anche una moderata riduzione del peso. Tali farmaci sono stati valutati nei pazienti con NAFLD dimostrando un miglioramento degli enzimi epatici e della steatosi epatica (documentata mediante imaging radiologico) [48].

In un recente trial clinico randomizzato di fase 2 (controllato con placebo) che ha arruolato oltre 300 pazienti con NASH e fibrosi, il trattamento per 72 settimane con semaglutide, un agonista del recettore del GLP-1, specie alla dose di 0,4 mg al giorno per via sottocutanea, ha permesso di ottenere una maggiore risoluzione istologica della NASH senza peggioramento della fibrosi epatica rispetto al placebo (59% vs. 17%,  $p < 0,001$ ) [46]. È difficile discernere, tuttavia, se questi effetti benefici della semaglutide sulla NASH siano completamente indipendenti dalla concomitante perdita di peso.

Dato che i pazienti con NAFLD sono anche ad alto rischio di malattie cardiovascolari, le statine (seppur non avendo dimostrato uno specifico beneficio nel trattamento della NAFLD) possono controllare efficacemente la dislipidemia che è spesso presente nei pazienti con NAFLD e dovrebbero quindi essere sempre prese in considerazione in questa popolazione di pazienti [3].

La vitamina E è un farmaco antiossidante che protegge le membrane cellulari dal danno ossidativo e possibilmente regola l'apoptosi [49]. È stato dimostrato che il trattamento con vitamina E riduce la steatosi e l'infiammazione epatica nei pazienti con NASH, specie in quelli senza diabete [50]. Tuttavia, la vitamina E

non ha mostrato alcun effetto benefico sulla fibrosi epatica. Inoltre, dovrebbero essere presi in considerazione i suoi potenziali effetti avversi a lungo termine, come un aumento della mortalità cardiovascolare e del cancro alla prostata [51]. La vitamina E è attualmente raccomandata per l'uso off-label in pazienti con NASH, specialmente quelli senza diabete, dopo un'attenta valutazione del rapporto rischio / beneficio [3].

L'acido obeticolico, un acido biliare sintetico che agisce come un agonista del *farnesoid X receptor* (FXR) , è un agente promettente per il trattamento della NASH, poiché studi preclinici e sull'uomo hanno indicato un miglioramento istologico della steatosi epatica, dell'infiammazione ed anche della fibrosi epatica [52]. Un'analisi *ad interim* di un ampio trial clinico randomizzato di fase 3, denominato REGENERATE (“The Randomized Global Phase 3 Study to Evaluate the Impact on NASH With Fibrosis of Obeticholic Acid Treatment”), ha dimostrato che il trattamento con acido obeticolico induce un miglioramento della fibrosi, senza peggioramento istologico della NASH, che è superiore rispetto al placebo, sebbene tale farmaco non sia riuscito a dimostrare anche una maggiore risoluzione della NASH rispetto al placebo [53]. Nonostante questi effetti promettenti, l'uso di acido obeticolico si associa a prurito e ad un effetto sfavorevole sul profilo lipidico (con incremento dei livelli del colesterolo LDL), che può ulteriormente concorrere ad aumentare il rischio cardiovascolare già elevato dei pazienti con NASH [54].

Altri farmaci attualmente studiati in trials clinici randomizzati di fase 2 e 3 sono: elafibranor, un doppio agonista PPAR- $\alpha$  /  $\delta$  [55]; cenicriviroc, un duplice antagonista del recettore per le chemochine C-C di tipo 2/5 con potenziali effetti anti-infiammatori e anti-fibrotici [56]; pegbelfermin, un analogo di FGF-21, che promuove l'ossidazione degli acidi grassi e riduce la lipogenesi epatica de novo [57]; resmetirom, un  $\beta$ -agonista selettivo del recettore dell'ormone tiroideo, che ha ridotto la steatosi epatica [58].

## 1.2 NAFLD ED OBESITA'

L'obesità sembra giocare un ruolo rilevante sia nel processo iniziale che porta alla NAFL, ma anche nella sua progressione verso la NASH [19]. Quando la capacità del tessuto adiposo di immagazzinare l'energia in eccesso è diminuita, come nell'obesità, gli epatociti svolgono una funzione simile agli adipociti, immagazzinando i lipidi in eccesso, principalmente sotto forma di trigliceridi, favorendo così lo sviluppo della NAFL [59] (**Figura 3**). La disponibilità in eccesso di acidi FFA risultante dalla lipolisi accelerata e dal ridotto assorbimento di acidi grassi nel tessuto adiposo sottocutaneo porta all'accumulo di grasso ectopico (specie nel fegato e muscolo scheletrico) e, successivamente, all'insulino-resistenza [60]. Come accennato in precedenza, gli FFA rappresentano il principale substrato per la sintesi dei TG intraepatici. Gli FFA derivano in parte dalla dieta (circa il 15%) ed in gran parte dalla lipolisi del tessuto adiposo (circa il 60%), ma anche dalla lipogenesi de novo all'interno dell'epatocita (circa il 25%) [61].

La lipotossicità e la glucotossicità, due processi che iniziano con l'esposizione degli epatociti a livelli elevati di lipidi e carboidrati, rispettivamente, giocano un ruolo centrale sia nello sviluppo della NAFL che nella successiva progressione a NASH. Una dieta ricca di grassi e carboidrati, come di solito si osserva nel soggetto obeso, predispone ad un aumentato rischio di sviluppare NAFL e NASH.

Il rilascio di FFA da adipociti disfunzionali e resistenti all'insulina porta a lipotossicità, che è indotta dall'accumulo ectopico di metaboliti tossici derivati dai trigliceridi e dalla conseguente attivazione di vie infiammatorie, disfunzione cellulare e lipo-apoptosi; la mancanza della capacità degli epatociti di smaltire gli FFA in eccesso induce apoptosi, che è una caratteristica essenziale della NASH [62].

Se l'obesità non viene trattata, la NAFL può progredire verso la NASH attraverso l'avvio di un processo proinfiammatorio epatico, che può essere considerato come la conseguenza di un processo adattativo controregolatorio non riuscito per limitare lo sviluppo della steatosi epatica [19]. Durante tale processo, le cellule

immunitarie innate epatiche, comprese le cellule di Kupffer, le cellule dendritiche e le cellule stellate (HSC) vengono attivate e il fegato viene progressivamente infiltrato da cellule immunitarie, inclusi neutrofili, monociti, linfociti T e principalmente macrofagi [63]. All'interno del fegato, le cellule immunitarie rilasciano molteplici citochine che aumentano ulteriormente il processo infiammatorio, e contribuiscono anche al processo fibrotico, che di solito si manifesta quando l'infiammazione si prolunga nel tempo [20] (**Figura 3**).

A seguito di un danno epatico, le cellule immunitarie “dialogano” con quelle riparatrici, ossia le cellule endoteliali attivate, i mio-fibroblasti e le cellule progenitrici degli epatociti, agendo in maniera sincrona e mirando alla rigenerazione dei tessuti [64]. In circostanze normali, questo meccanismo controregolatorio riesce a sostituire gli epatociti che sono andati incontro a necrosi ed apoptosi. Quando questo meccanismo fallisce (ad esempio, come in caso di obesità severa), si attiva la fibrogenesi epatica, forse come un tentativo infruttuoso di riparare il danno epatico e di indurre la rigenerazione dei tessuti. La cirrosi e l'HCC sono i risultati finali di risposte persistenti e mal adattative di questi processi.

La prevalenza di NAFLD negli individui obesi (>80% dei casi) è superiore a quella della popolazione generale (che è presente nel 25-30% dei casi), anche se varia a seconda dell'etnia, dell'età e di altri fattori predisponenti, incluso la coesistenza di diabete tipo 2 e, soprattutto, a seconda del metodo utilizzato per la diagnosi della NAFLD [65]. Nella regione Asia-Pacifico, la prevalenza di NAFLD negli individui obesi varia tra il 10% e l'80%, con la prevalenza più bassa in Corea (10-50%) e quella più alta in Giapponese e Cina (60-80%) [66]. In una popolazione italiana la prevalenza di NAFLD era del 76% negli obesi e del 16% nei soggetti normopeso, con un rischio relativo 4.5 volte più alto negli obesi [67]. La prevalenza di NAFLD è stata stimata attorno al 22% nei soggetti in sovrappeso e dell'80% negli obesi olandesi e del 68% negli individui obesi degli Stati Uniti [68].

La prevalenza di NAFLD risulta essere ancora più elevata nei pazienti con obesità patologica, essendo presente in oltre il 90% in alcuni studi [69]. Tale prevalenza aumenta pressochè linearmente con il BMI, come dimostrato in una popolazione

giapponese, essendo circa 10%, 38%, 60% e 85% in individui con BMI rispettivamente <23, 23–25, 25–28 e  $\geq 28$  kg/m<sup>2</sup> [70]. In un ampio studio di coorte di circa 77.500 individui metabolicamente sani senza NAFLD al basale, i soggetti in sovrappeso (rapporto di rischio 2,2) e obesi (rapporto di rischio 3,6) erano a rischio più elevato di sviluppare NAFLD rispetto agli individui normopeso dopo un follow-up di 4,5 anni [71]. L'associazione indipendente tra obesità e NAFLD è stata convalidata da due meta-analisi, una composta da 21 studi di coorte [72] e l'altra composta da 21 studi osservazionali, principalmente caso-controllo e cross-sectional [73]. Nel primo studio, gli obesi avevano un rischio relativo di NAFLD 3,5 volte più alto rispetto agli individui magri indipendentemente dalla coesistenza di altri fattori di rischio. Inoltre, è stata documentata la presenza di un'associazione dose-dipendente tra BMI e rischio di NAFLD, con un incremento del rischio relativo di NAFLD che aumentava di 1,2 per ogni aumento di 1 unità in BMI [72]. La seconda meta-analisi ha invece dimostrato un rischio relativo aumentato di oltre due volte di sviluppare NAFLD in persone con BMI e circonferenza vita elevati [73]. Vi era inoltre un'associazione dose-dipendente tra BMI e/o circonferenza della vita e rischio di NAFLD, essendo di 1.3 e 1.1 l'aumento del rischio di NAFLD per ogni aumento rispettivamente di 1 unità BMI e circonferenza della vita [73].

L'incidenza e la prevalenza di NAFLD sembra aumentare con tassi maggiori nei pazienti di età inferiore a 45 anni rispetto a pazienti più anziani [74]. Anche la NASH e la fibrosi epatica aumentano con l'obesità [75]. I pazienti NAFLD obesi vs. non obesi mostrano un più elevato NAS score, tassi più elevati di ballooning epatocellulare, maggiore infiammazione epatica e fibrosi [76]. Queste osservazioni sono state confermate in una meta-analisi di 8 studi osservazionali, in cui i sovrappeso / obesi pazienti con NAFLD avevano lesioni istologiche più severe, tra cui NAS e fibrosi epatica rispetto ai pazienti magri con NAFLD [77].

In uno studio italiano, tassi più alti di NASH sono stati anche osservati in soggetti sovrappeso / obesi rispetto ai normopeso che sono stati sottoposti a biopsia epatica (41% vs. 17%); anche il tasso di fibrosi (stadio di fibrosi [F]  $\geq 2$ ) era maggiore nel primo (42%) rispetto al secondo gruppo (17,5%) [78].

L'obesità aumenta il rischio di cirrosi epatica. In uno studio di coorte, nei pazienti obesi con NASH, che sono stati seguiti per 4,5 anni, il 7% presentava già fibrosi avanzata e/o cirrosi al basale [79].

In una revisione sistematica, la cirrosi era diagnosticata nello 0–7% degli pazienti con obesità patologica sottoposti a chirurgia bariatrica[80]. Sia la fibrosi avanzata (F3) che la cirrosi (F4) sono state riportate nel 6% dei pazienti con obesità severa affetti da NASH che sono stati sottoposti a chirurgia bariatrica [81].

L'obesità è stata associata ad un aumentato rischio di cancro in generale e all'HCC in particolare [82]. I tassi di HCC sono più elevati negli obesi rispetto agli individui magri, suggerendo che l'obesità fornisca un importante contributo all'HCC nei pazienti con cirrosi criptogenetica [83]. È interessante notare che può svilupparsi in pazienti con NASH anche in assenza di cirrosi [84], quindi rendendo la diagnosi precoce e la gestione della NASH di fondamentale importanza.

Gli obesi presentano una malattia epatica che ha una prognosi peggiore rispetto ai pazienti NAFLD non obesi. Più specificamente, durante un follow-up di 4 anni, i tassi di eventi clinici importanti, inclusi morte, ictus, infarto miocardico, HCC e altri tumori maligni, erano complessivamente più elevati negli obesi con NAFLD rispetto a quelli non obesi (12% e 8%, rispettivamente); in particolare, i decessi (2,6%) e lo sviluppo di HCC (0,9%) era osservato solo nel gruppo degli obesi [76].

Negli obesi è quindi mandatorio il follow-up ed il trattamento anche della NAFLD [2]. E' importante trattare l'eccesso ponderale, in primis con dieta ed esercizio fisico, e se non sono sufficienti, è raccomandata attualmente la terapia farmacologica nei soggetti con BMI  $\geq 30$  kg / m<sup>2</sup> o in quelli con BMI  $\geq 27$  kg / m<sup>2</sup> e comorbidità correlate all'obesità. Se anche la combinazione di modifica dello stile di vita e farmacoterapia dovesse fallire, è necessario prendere in considerazione la chirurgia bariatrica in particolare nei soggetti con BMI  $\geq 40$  kg / m<sup>2</sup> o in quelli con BMI  $\geq 35$  kg / m<sup>2</sup> e comorbidità correlate all'obesità [85].

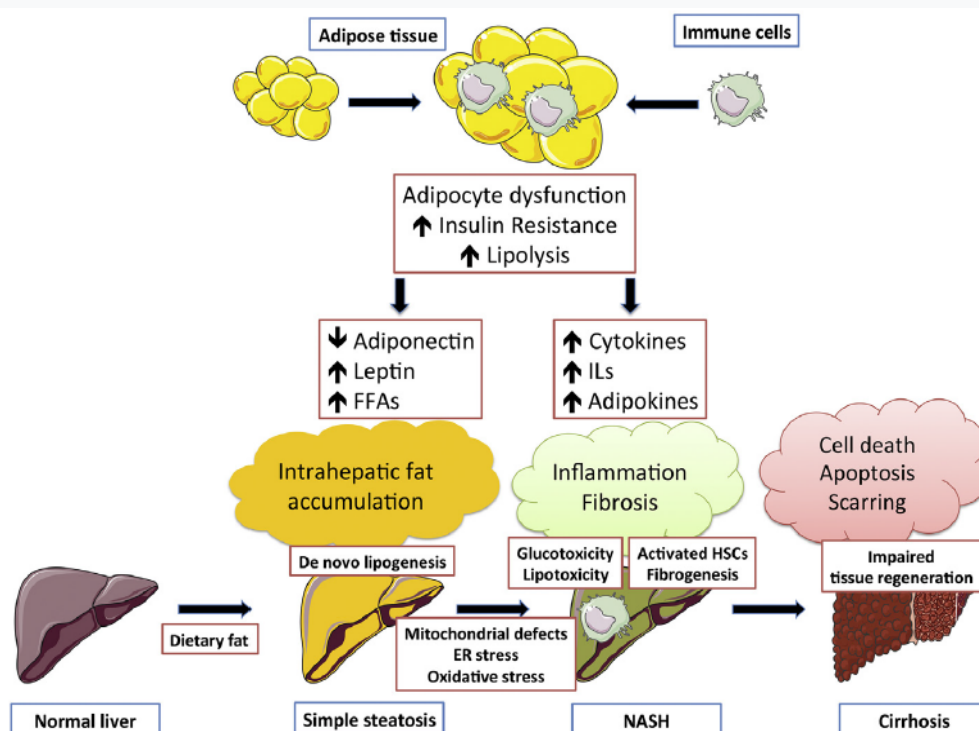
Per quanto riguarda i farmaci che sono indicati per il trattamento dell'obesità, l'Orlistat, derivato saturo della lipostatina agisce inibendo le lipasi pancreatiche, impedendo così l'assorbimento di circa un terzo dei trigliceridi alimentari, e

favorendo così la perdita di peso. In uno studio randomizzato controllato di 6 mesi, orlistat (240 mg/die) ha ridotto le transaminasi e migliorato l'evidenza ecografica di steatosi [86]. In un altro piccolo gruppo di pazienti obesi con NASH, che sono stati trattati per 6 mesi con orlistat e sottoposti a duplice biopsia epatica (n = 14), orlistat ha significativamente ridotto il peso e le transaminasi circolanti oltre che migliorato l'istologia epatica, riducendo la steatosi, infiammazione e la fibrosi epatica in circa il 70% di questi pazienti [87].

Gli analoghi del GLP-1, che sono farmaci attualmente disponibili in commercio per il trattamento del diabete tipo 2, grazie alla loro capacità di indurre un sensibile calo ponderale, sono stati recentemente approvati (liraglutide 3 mg/die per via sottocutanea) o testati (vedi semaglutide 2.4 mg/settimana) anche come farmaci per il trattamento dell'obesità. In particolare, il trattamento con liraglutide per 5 mesi ha sensibilmente ridotto il peso corporeo, gli enzimi epatici, il grasso viscerale ed la steatosi epatica (valutata mediante TAC). In particolare, in un sottogruppo di pazienti (n = 10), che ha proseguito il trattamento con liraglutide per circa 2 anni e che sono stati sottoposti a biopsia epatica di controllo, la NAS è migliorata in otto di questi pazienti, è rimasta stabile in un paziente ed è peggiorata in una paziente, mentre la fibrosi è migliorata in sei pazienti, è rimasta stabile in tre e peggiorata in un paziente [88]. È attualmente in corso un trial randomizzato di fase 2, che valuta la sicurezza e l'efficacia di semaglutide specificamente nei pazienti obesi con NASH.



**Figura 3. Fisiopatologia della NAFLD e ruolo dell'obesità.[114]**



Nell'obesità l'espansione del tessuto adiposo riduce la sua capacità di immagazzinare l'energia in eccesso. La presenza di disfunzione degli adipociti ed insulino-resistenza concorrono ad una aumentata lipolisi periferica con rilascio di FFA circolanti. Di conseguenza, gli FFA circolanti e la leptina aumentano e l'adiponectina diminuisce, con conseguente accumulo di grasso intra-epatico (SS), che può ulteriormente aumentare a causa dall'elevato contenuto di grassi e carboidrati nella dieta (comunemente osservati nell'obesità) e di una aumentata lipogenesi epatica de novo. In seguito alla sua espansione, il tessuto adiposo viene anche infiltrato da cellule immunitarie, che producono diverse citochine pro-infiammatorie. Quando l'obesità non viene gestita con successo nella fase della SS, le cellule immunitarie si infiltrano anche nel fegato, contribuendo ulteriormente a un processo infiammatorio epatico cronico. La lipotossicità e la glucotossicità giocano un ruolo centrale nello sviluppo di SS e nella successiva progressione a NASH e cirrosi. I difetti mitocondriali, lo stress ER e l'aumentato stress ossidativo collegano la lipotossicità e la glucotossicità con SS e NASH. Quando l'infiammazione epatica dura per molto tempo, questa induce una aumentata fibrogenesi epatica dove le HSC svolgono un ruolo chiave. L'aggravamento della fibrogenesi epatica può portare a cirrosi e HCC. *Abbreviazioni:* ER, reticolo endoplasmatico; FFA, acidi grassi liberi; IL, interleuchine; HSC, cellule stellate epatiche; IR, resistenza all'insulina; NASH, steatoepatite non alcolica; SS, semplice steatosi

### 1.3 NAFLD ED ADIPONECTINA

L'adiponectina, è un ormone prodotto prevalentemente dal tessuto adiposo. Tra le sue principali funzioni vi è quella di sopprimere l'azione del TNF- $\alpha$  inibendone l'espressione e antagonizzandone l'attività[89]. Nel fegato, diverse citochine pro-infiammatorie, come IL-6 e TNF- $\alpha$ , sono prodotte principalmente dalle cellule di Kupffer e dalle cellule stellate epatiche (HSC) e, in parte, dagli epatociti infiammati [90][91]. Sperimentalmente, è stato dimostrato che l'adiponectina è in grado di migliorare la NASH e la fibrosi epatica, sopprimendo l'attivazione delle cellule di Kupffer e HSC. L'attenuazione della produzione di citochine pro-infiammatorie da parte dell'adiponectina è mediata in parte dall'attenuazione della traslocazione del fattore nucleare kappa B (NF- $\kappa$ B) nel nucleo [92]. L'adiponectina può anche indurre l'espressione della citochina anti-infiammatoria antagonista del recettore interleuchina-1 [93][94]. La trasformazione delle cellule stellate epatiche in miofibroblasti è un passaggio chiave, che avvia il processo fibrogenetico in presenza di lesioni epatiche [95] [96]. Inoltre, l'adiponectina regola anche l'espressione epatica di TGF- $\beta$ 1, un fattore pro-fibrotico coinvolto nell'attivazione delle HSC [97], che gioca un ruolo importante nella neofibrogenesi di NAFLD.

Nei pazienti con NASH, i mitocondri epatici presentano lesioni ultrastrutturali e diminuita attività dei complessi della catena respiratoria [98]. In questa condizione, la diminuzione dell'attività della catena respiratoria provoca l'accumulo di ROS che ossidano i depositi di grasso, inducendo una aumentata perossidazione lipidica, i cui prodotti a loro volta causano NASH e fibrosi. L'aumentata formazione di ROS nella NASH danneggia direttamente il DNA ed i polipeptidi della catena respiratoria mitocondriale, inducendo l'attivazione di NF- $\kappa$ B e la sintesi epatica di TNF $\alpha$  [99]. Reazioni di fosforilazione ossidativa mediata dai complessi della catena respiratoria dei mitocondri sono direttamente coinvolti nella regolazione delle attività dei ROS cellulari e nel prevenire l'accumulo di lipidi e la perossidazione lipidica nel fegato.

Un ruolo essenziale riveste la proteina disaccoppiante 2 (UCP2), che è un trasportatore della membrana mitocondriale, nel mediare gli effetti benefici dell'adiponectina sulle attività di MRC. La sovra-espressione di recettori adipo-R2 sovraregola i livelli di mRNA di UCP2, della catalasi, e del superossido dismutasi-1 nel fegato [100]. Inoltre, gli effetti dell'adiponectina sulle attività della MRC risultano marcatamente attenuati nei topi con deficit di UCP2, suggerendo che l'aumentata espressione di UCP2 potrebbe essere obbligatoria affinché l'adiponectina eserciti le sue attività protettive sulla funzione dei mitocondri. UCP2 possiede attività antiossidanti attraverso l'inibizione della produzione di ROS da parte dei mitocondri [101]. Inoltre, UCP2 inibisce anche la produzione di citochine proinfiammatorie, sia nei macrofagi che nelle cellule Kupffer [102].

## 1.4 CHIRURGIA BARIATRICA

La chirurgia bariatrica è una strategia d'intervento invasiva, che è raccomandata per soggetti altamente selezionati, quando metodi meno invasivi (come dieta, attività fisica, terapia cognitivo comportamentale e farmaci) si sono rivelati ripetutamente inefficaci.

Le principali indicazioni alla chirurgia bariatrica sono le seguenti [103]:

Per i pazienti di età compresa tra i 18 ed i 60 anni:

1. BMI >40 kg/m<sup>2</sup>
2. BMI tra 35 e 40 kg/m<sup>2</sup> in presenza di comorbidità che, presumibilmente, possono migliorare o guarire a seguito della notevole e persistente perdita di peso ottenuta con l'intervento di chirurgia bariatrica (diabete tipo 2, ipertensione, patologie cardiorespiratorie, gravi malattie articolari, OSAS ecc.).

Per essere candidati all'intervento i pazienti devono avere nella loro storia clinica un fallimento di un corretto trattamento medico (mancato o insufficiente calo ponderale; scarso o mancato mantenimento a lungo termine del calo di peso).

Le principali controindicazioni specifiche alla chirurgia bariatrica sono [103]:

1. assenza di un periodo di trattamento medico verificabile
2. paziente incapace di partecipare ad un prolungato protocollo di follow-up
3. disordini psicotici, depressione severa, disturbi della personalità e del comportamento alimentare, valutati da uno psichiatra o psicologo dedicato
4. alcolismo e tossicodipendenza
5. malattie correlate a ridotta aspettanza di vita
6. pazienti inabili a prendersi cura di sé stessi e/o senza un adeguato supporto familiare e sociale.

Esistono attualmente diverse tecniche di chirurgia bariatrica. Nel nostro studio tutti i pazienti sono stati sottoposti alle due tecniche chirurgiche, che sono risultate essere più efficaci ed associate con minor tasso di eventi avversi a lungo termine, ossia la sleeve gastrectomy ed il bypass gastrico.

### 1.4.1 SLEEVE GASTRECTOMY

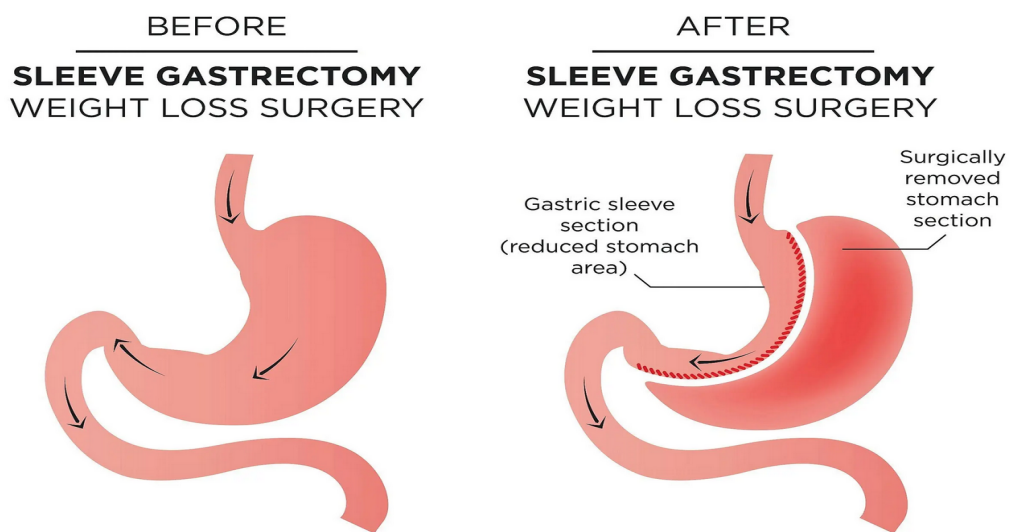
La sleeve gastrectomy (SG) è un intervento chirurgico di tipo restrittivo, che consiste nella sezione dello stomaco con rimozione di circa i 2/3 di esso (come schematicamente evidenziato nella **Figura 4**). La sezione gastrica avviene parallelamente alla piccola curva in modo da creare uno stomaco di forma tubulare. L'intervento è eseguibile con tecnica laparoscopica e mira a ridurre drasticamente la quantità di cibo, che può essere ingerita e provoca un senso di sazietà precoce. La parte di stomaco rimanente ha un aspetto tubulariforme di volume molto ridotto, con una capacità di circa 100/150 mL. Questa procedura chirurgica non è reversibile, in quanto una parte dello stomaco viene completamente asportata. I nervi dello stomaco ed il piloro, rimangono intatti, preservando la funzione gastrica nonostante il ridotto volume gastrico. Durante l'alimentazione il cibo entra nello stomaco tubulizzato e lo riempie per impilamento, venendo trattenuto dal piloro. Il riempimento del tubulo gastrico determina un'importante limitazione meccanica all'assunzione di ulteriore cibo, che si associa ad un precoce senso di sazietà.

Tuttavia, la rimozione di una parte significativa dello stomaco e/o la modificazione della velocità di transito gastrico causano anche modificazioni della secrezione di entero-ormoni ad azione di regolazione sul bilancio energetico e sul metabolismo glucidico. Alcuni studi hanno dimostrato che la porzione di stomaco che viene asportata (in particolare il fondo gastrico) produce la Grelina (o Ghrelina), che è uno degli ormoni responsabili del senso della fame. La riduzione dei livelli di questo ormone, che si osserva dopo l'intervento chirurgico, determina un calo dell'appetito.

L'intervento di SG è stato inizialmente introdotto come primo tempo di interventi bariatrici successivi più complessi (duodenal switch) nei pazienti con gravi problemi cardio-respiratori e con BMI molto elevati, ma viene oggi proposto anche e prevalentemente come intervento chirurgico isolato.

La mortalità operatoria della SG è circa dello 0.2% ed è principalmente dovuta alla comparsa di fistole a livello della lunga sutura gastrica. Le principali complicanze post-operatorie sono rappresentate da dilatazione dello stomaco

residuo e reflusso gastro-esofageo. I risultati in termini di calo ponderale dopo SG sono valutabili intorno al 60% dell'eccesso di peso. I risultati a lungo termine sono buoni, ma vi è un significativo numero di casi in cui si verifica una certa ripresa ponderale ed in cui può essere richiesto il completamento dell'intervento mediante una nuova procedura di revisione chirurgica [104].



**Figura 4.** Rappresentazione schematica dell'intervento di sleeve gastrectomy.

## 1.4.2 BYPASS GASTRICO

Il bypass gastrico Roux-en-Y (RYGB) per via laparoscopica è ad oggi considerato l'intervento 'gold standard' per il trattamento dell'obesità patologica. RYGB è una procedura chirurgica in parte ad azione malassorbitiva ed in parte restrittiva (come schematicamente mostrato nella **figura 5**). L'azione malassorbitiva generata dal RYGB è blanda e ciò consente di ridurre il deficit di assorbimento vitaminico e le scariche diarroiche, che sono caratteristiche degli interventi malassorbitivi puri, quali la derivazione bilio-pancreatica.

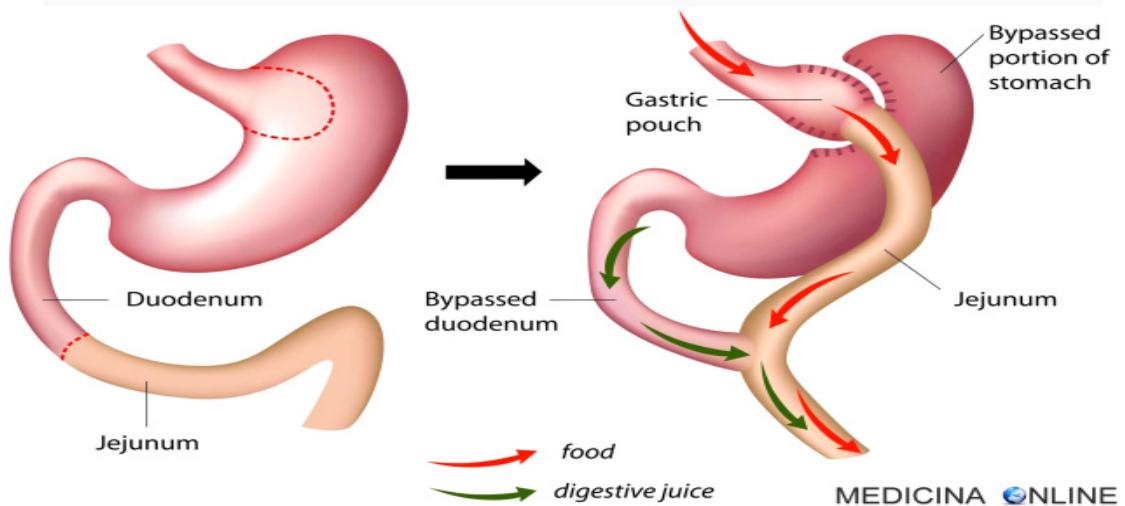
L'azione restrittiva è garantita dalla creazione di una tasca gastrica di piccolo volume (15-20 mL), esclusa dalla restante porzione dello stomaco, in grado di contenere solo limitate quantità di cibo. A questa neo-tasca viene collegato il digiuno, andando quindi ad escludere dal transito degli alimenti la restante parte dello stomaco ed il duodeno. Con un'ulteriore congiunzione intestinale si fa inoltre in modo che i succhi biliari e pancreatici vengano a contatto con il cibo più distalmente.

Il calo ponderale avviene in parte mediante un meccanismo restrittivo, ma anche a seguito della modificazione della secrezione di entero-ormoni che svolgono una azione di regolazione sul bilancio energetico e sul metabolismo glucidico. Può partecipare alla determinazione del calo ponderale la presenza di una dumping syndrome a seguito dell'assunzione di bevande e/o cibi dolci. In seguito a questo intervento non vi è un significativo malassorbimento per i macronutrienti (lipidi, glicidi, protidi) ma vi è un certo grado di malassorbimento per alcuni micronutrienti (calcemia, sideremia e vitamina B12).

Il RYGB viene di solito eseguito con tecnica laparoscopica. Il trattamento mini-invasivo consente di ottenere indubbi vantaggi quali: riduzione del tasso di infezioni e di laparoceli post-operatori, e minore dolore postchirurgico che si riflette su un più rapido recupero e minori tempi di ospedalizzazione.

Le complicanze operatorie gravi legate all'intervento di RYGB sono intorno al 2% e la mortalità operatoria è circa 0.5%. Le principali complicanze post-operatorie specifiche sono rappresentate da fistola anastomotica (1%), stenosi anastomotica (1,5%), ulcera anastomotica (3%), ed ernie interne (3%). Le

possibili complicanze nutrizionali sono rappresentate da anemia multifattoriale (più frequentemente microcitica sideropenica) e da osteoporosi/osteomalacia. La prevenzione delle complicanze nutrizionali richiede un supplemento vitaminico e minerale, che deve essere adeguato alle necessità del paziente. I risultati in termini di calo ponderale sono valutabili intorno al 50-65% dell'eccesso di peso. Il calo ponderale è rapido specie nel primo anno dopo l'intervento. Le modificazioni della secrezione di ormoni dell'asse enteroinsulare permette inoltre un rapido e specifico effetto di miglioramento del compenso glicometabolico nel paziente con diabete tipo 2 [105].





## 1.5 CHIRURGIA BARIATRICA E NAFLD

La chirurgia bariatrica, oltre a ridurre in maniera importante il peso corporeo, induce un miglioramento delle comorbidità correlate all'obesità (insulino-resistenza, diabete mellito tipo 2, ipertensione arteriosa, dislipidemia, OSAS) ed è anche in grado di migliorare tutte le caratteristiche istopatologiche della NASH, inclusa la fibrosi epatica [105].

Uno studio prospettico della durata di 5 anni, su 180 pazienti affetti da obesità grave e NASH (con diagnosi istologica da biopsia epatica) ha dimostrato che l'intervento di chirurgia bariatrica ha portato alla risoluzione istologica della NASH senza peggioramento della fibrosi in circa 85% dei pazienti. La risoluzione della NASH ha portato anche alla regressione della fibrosi nel 70% di tali pazienti. La risoluzione della NASH si è verificata entro il primo anno dall'intervento bariatrico, e tale risultato è stato mantenuto nei 5 anni di osservazione; anche la fibrosi ha iniziato a migliorare entro il primo anno, proseguendo per tutto il follow-up di 5 anni [106].

Una meta-analisi di 2374 pazienti ha confermato che la steatosi e la NASH migliorano e/o si risolvono nella maggior parte (>80%) dei pazienti sottoposti a chirurgia bariatrica. Ancora più importante, la chirurgia bariatrica migliora e/o risolve la fibrosi epatica nel 30% dei pazienti. In tale meta-analisi, il bypass gastrico (RYGB) sembra esercitare un migliore impatto sulle caratteristiche istologiche della NAFLD/NASH rispetto alla SG [107].

Una meta-analisi pubblicata nel 2008 ha riportato un miglioramento della NAFLD in una piccola coorte (n=766) dopo chirurgia bariatrica. In questa meta-analisi sono stati inclusi 15 studi (per un totale di 766 biopsie epatiche accoppiate); di questi 8 studi (401 biopsie epatiche accoppiate) erano prospettici e 7 studi (365 biopsie epatiche accoppiate) erano di natura retrospettiva. La percentuale di pazienti che dopo la chirurgia bariatrica ha mostrato un miglioramento o la risoluzione della steatosi era il 92%, il miglioramento della NASH è stato dell'81% ed il miglioramento della fibrosi era del 65%, rispettivamente [108].

Più recentemente, una revisione sistematica della letteratura ha concluso che la chirurgia bariatrica è associata a un significativo miglioramento dei markers

biochimici di NAFLD [7]. In particolare, la chirurgia bariatrica ha migliorato la steatosi nel 50% dei pazienti e degli scores di fibrosi avanzata nel 12% dei casi [109].

Un altro studio ha dimostrato la diminuzione degli scores di fibrosi avanzata (rapporto AST/ALT, indice APRI e punteggio BARD) ad un anno dall'intervento [110]. In uno studio prospettico su 31 pazienti obesi sottoposti a RYGB è stata dimostrata una significativa riduzione del contenuto di grasso intraepatico, utilizzando la RM in spettroscopia, dopo 12 mesi dall'intervento bariatrico [111].

In una meta-analisi di 32 studi di coorte comprendenti 3093 campioni di biopsia, Lee et al. hanno mostrato che la chirurgia bariatrica ha indotto una risoluzione, confermata dalla biopsia, della steatosi nel 66% dei pazienti, infiammazione nel 50%, degenerazione del ballooning nel 76% e fibrosi nel 40% [112]. Tuttavia, gli autori hanno anche segnalato che dopo l'intervento chirurgico un certo numero di pazienti possono anche mostrare un peggioramento della NASH [113].

Ricordiamo che la chirurgia bariatrica, oltre al calo ponderale, induce un aumento dei livelli circolanti di glucagon-like peptide-1 (GLP-1), che, a sua volta, diminuisce l'appetito, rallenta lo svuotamento gastrico e migliora la sensibilità all'insulina. Inoltre, GLP-1 modula la segnalazione degli acidi biliari attraverso il recettore farnesoide X (FXR), che può alterare il microbioma intestinale e promuovere NAFLD [113].

Sebbene siano necessari più dati, la chirurgia bariatrica risulta essere una opzione terapeutica efficace nei pazienti con obesità grave ed affetti da NAFLD, che non rispondono a precedenti modifiche dello stile di vita e al trattamento farmacologico. Naturalmente, bisogna fare sempre un bilancio nel singolo paziente tra i possibili benefici della chirurgia bariatrica ed i possibili rischi di complicanze peri- e post-operatorie (sanguinamento, infezione, reazioni avverse all'anestesia, coaguli di sangue, ostruzione intestinale, sindrome da dumping, ecc) [114].

## 1.6 CHIRURGIA BARIATRICA ED ADIPONECTINA

L'obesità si associa ad una down-regolazione di fattori anti-infiammatori come l'adiponectina. Il motivo del paradosso rappresentato dalla diminuita produzione di adiponectina a fronte della ipertrofia del tessuto adiposo e della concomitante ipersecrezione di altre adipochine è verosimilmente rappresentato dalla coesistenza di iperinsulinemia, che inibisce l'espressione dell'adiponectina e dei suoi recettori. Inoltre, un ruolo importante sulla diminuita produzione di adiponectina è anche svolto dalle citochine pro-infiammatorie che, agendo sull'adipocita, comporterebbero una minore attività del promotore del relativo gene [115].

Una recente meta-analisi di 54 studi prospettici, includenti un totale di 1862 partecipanti, ha indagato i livelli circolanti di adiponectina dopo intervento di chirurgia bariatrica. Complessivamente, i risultati di questa meta-analisi hanno mostrato che l'adiponectina aumenta significativamente in seguito a chirurgia bariatrica. Sono state fatte inoltre analisi in vari sottogruppi di pazienti in base al sesso, tipo di intervento chirurgico, BMI basale e lunghezza del periodo di follow-up. Tali analisi hanno documentato che il significativo incremento, indotto dalla chirurgia bariatrica, dei livelli circolanti di adiponectina si è osservato in tutti i sottogruppi. I livelli plasmatici di adiponectina aumentavano inoltre in entrambi i sessi indipendentemente dai valori di BMI al basale [116].

English et al. hanno dimostrato che i livelli di adiponectina a digiuno erano marcatamente ridotti nei pazienti obesi (media 2,9 µg/ml) rispetto ai pazienti magri (media 8,6 µg/ml). Tuttavia, tali livelli sono quadruplicati 60 minuti dopo un pasto nei pazienti obesi (media 12 µg/ml), mentre sono rimasti pressochè invariati nel gruppo dei controlli normopeso. Questi risultati suggeriscono che l'adiponectina possa svolgere un ruolo nel mantenimento della normotolleranza glucidica negli individui insulino-resistenti e obesi [117].

Guldstrand et al. [118] hanno studiato i livelli di adiponectina in 5 pazienti sottoposti a trattamento di bypass digiuno-ileale e 8 pazienti sottoposti a gastroplastica con fascia verticale. I livelli pre-operatori di adiponectina per tutti i 13 pazienti erano in media di  $7,2 \pm 2$  µg/ml e sono aumentati, rispettivamente, a

9,0 ± 2,4 µg/ml in presenza di una riduzione del peso corporeo del 15% ed a 11,1 ± 4 µg/ml in presenza di una riduzione del peso del 25%. Come atteso, il calo ponderale indotto dall'intervento chirurgico si è associato in questi pazienti ad un netto miglioramento della sensibilità all'insulina ed ad una riduzione della concomitante iperinsulinemia.

Faraj et al. [119] hanno studiato 50 pazienti presso il Royal Victoria Hospital di Montreal in Canada. Dopo intervento di chirurgia bariatrica, il loro peso è sceso del 36 ± 9,6%. L'indice HOMA-IR è sceso da una media preoperatoria di 7,80 a 1,69 nei pazienti dopo dimagrimento, mentre i livelli di adiponectina sono aumentati di circa il 50% rispetto al basale. È interessante notare che in questo studio il predittore migliore di una maggiore perdita di peso nel periodo postoperatorio era il livello preoperatorio di adiponectina plasmatica.

Il gruppo di Pories [120] ha documentato un aumento di circa il 40% dei livelli di adiponectina (7,4 ± 1,6 µg/ml prima dell'intervento; 10,3 ± 2 µg/ml dopo l'intervento) dopo che i pazienti operati hanno perso in media 48,3 ± 6 kg. La loro sensibilità all'insulina è inoltre aumentata di 5 volte ed i livelli plasmatici di insulina sono diminuiti di 5 volte (passando da da 30 a 6 µU/ml). Anche Vendrell et al. [121] hanno documentato aumentati livelli circolanti di adiponectina in 34 pazienti obesi sottoposti a bypass gastrico [117].

Alcuni dati di letteratura indicano che pare esserci un maggiore aumento percentuale dell'adiponectina circolante dopo RYGB (mediamente +70%) rispetto alle procedure restrittive (mediamente +36%). L'aumento percentuale dei livelli di adiponectina è fortemente correlato alla diminuzione percentuale in BMI e del peso corporeo indotto dalla chirurgia bariatrica [122].

Coughlin et al. [123] ha suggerito che è necessaria comunque una soglia di perdita di peso di almeno il 10% per produrre dei miglioramenti significativi nei valori di adiponectina, documentando aumenti maggiori dei livelli di adiponectina dopo che gli individui hanno perso circa il 35% del loro peso corporeo.

## 2 OBIETTIVI DELLO STUDIO

Questo studio ha arruolato un campione di pazienti affetti da obesità grave e candidati ad un intervento in elezione di chirurgia bariatrica (SG e RYGB) con i seguenti tre obiettivi principali:

1. valutare la prevalenza di NASH e fibrosi avanzata (che sono le due forme progressive della NAFLD) alla biopsia epatica, che è stata eseguita durante l'intervento chirurgico
2. esaminare le caratteristiche cliniche e biochimiche al baseline di tali pazienti, stratificati sulla base della presenza di NASH e/o severità della fibrosi (alla biopsia epatica)
3. esaminare le variazioni temporali delle transaminasi plasmatiche, adiponectina ed alcuni scores non invasivi di fibrosi avanzata (rapporto AST/ALT, FIB-4 score ed APRI index) dopo 6 e 12 mesi dall'intervento di chirurgia bariatrica

### 3 MATERIALI E METODI

#### *Popolazione, criteri di inclusione e disegno dello studio*

Lo studio effettuato è uno studio osservazionale, non randomizzato, i cui partecipanti sono stati tutti arruolati presso l'Ambulatorio dedicato allo screening della chirurgia bariatrica dell'UOC di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo. Lo studio è stato condotto in collaborazione con l'UOC di Chirurgia Generale e dell'Obesità dell'AOUI di Verona.

I principali criteri di inclusione dello studio erano:

- (1) candidabilità dei pazienti ad intervento in elezione di chirurgia bariatrica (sleeve gastrectomy o bypass gastrico)
- (2) età compresa tra 18 e 65 anni
- (3) BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> e/o BMI  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> con presenza di co-morbidità (diabete tipo 2, ipertensione arteriosa, dislipidemia, artropatia da carico e/o OSAS)
- (4) firma del consenso informato

I principali criteri di esclusione dello studio erano la presenza di epatopatia cronica/cirrosi da causa nota (alcol, virus, autoimmunità, farmaci, emocromatosi), diabete mellito tipo 1, neoplasie, insufficienza renale in fase emodialitica, cardiopatia ischemica e/o ictus ischemico/emorragico, trattamento corticosteroidico cronico, trattamento con statine e gravidanza in atto.

In tutti i partecipanti, al momento della prima visita ed in previsione dell'intervento chirurgico, sono stati raccolti i seguenti parametri:

1. informazioni clinico-anamnestiche riguardanti età, familiarità per malattia cardiovascolare, dislipidemia, diabete, abitudine tabagica ed introito alcolico giornaliero
2. informazioni riguardo le principali comorbidità e la terapia farmacologica in atto
3. peso, altezza, circonferenza vita, pressione arteriosa e frequenza cardiaca

4. esami ematochimici di routine, come emocromo, glicemia, HbA1c, profilo lipidico completo, enzimi epatici (AST, ALT, GGT), creatinina ed adiponectina
5. impedenzometria per la misurazione della massa grassa e massa magra corporea totale
6. 75-g OGTT con dosaggio di glicemia, C-peptide e insulina (basale e dopo 15', 30', 60', 90', 120' e 180' min)
7. clamp euglicemico iperinsulinemico della durata di 2 ore per la misurazione della sensibilità insulinica *in vivo*

Durante l'intervento in elezione di chirurgia bariatrica, eseguito normalmente entro 1 mese dall'esecuzione dei prelievi ematochimici basali (elencati sopra), in tutti i partecipanti è stata eseguita una biopsia epatica intra-operatoria per la valutazione del grado istologico di NAFLD (steatosi/infiammazione/fibrosi epatica).

Dopo 6 e 12 mesi dall'intervento di chirurgia bariatrica, nei partecipanti sono state nuovamente raccolte informazioni e dati riguardanti:

1. peso, altezza, circonferenza vita, pressione arteriosa e frequenza cardiaca
2. informazioni riguardanti la persistenza o scomparsa di diabete, dislipidemia e ipertensione, abitudine al fumo ed introito alcolico giornaliero
3. informazioni su terapia farmacologica in atto
4. impedenzometria
5. esami ematochimici come glicemia, HbA1c, profilo lipidico completo, enzimi epatici, creatinina ed adiponectina
6. 75-g OGTT con dosaggio di glicemia, C-peptide e insulina (basale e dopo 15', 30', 60', 90', 120' e 180' min)

Al baseline e durante il follow-up di 6 e 12 mesi, sono stati inoltre calcolati alcuni scores non invasivi di fibrosi, tra cui:

1. rapporto AST/ALT

2. Fibrosis (FIB)-4 score= età (anni) x AST (U/L)/piastrine (10<sup>9</sup>/L) x  $\sqrt{\text{AST(U/L)}}$
3. AST to Platelet Ratio Index (APRI)= AST(U/L)/ALT(U/L)/piastrine (10<sup>9</sup>/L)x100

I dati ematochimici e le informazioni cliniche a 12 mesi di distanza dall'intervento chirurgico sono attualmente disponibili in 20 dei 28 (71% del campione) partecipanti inclusi nello studio.

#### ***Dati antropometrici e clinici***

L'indice di massa corporea (BMI) è stato calcolato dividendo il peso in chilogrammi per l'altezza in metri al quadrato. La circonferenza della vita è stata misurata con un metro da sarta a livello del punto medio della distanza fra il margine inferiore dell'ultima costa ed il margine superiore della cresta iliaca. La pressione sanguigna è stata misurata con uno sfigmomanometro a mercurio standard (utilizzando un bracciale di dimensioni adeguate per i pazienti obesi).

Informazioni sul consumo alcolico giornaliero, abitudine tabagica e uso di farmaci sono state ottenute da tutti i pazienti attraverso interviste durante le visite mediche.

#### ***Dati di laboratorio***

In tutti i partecipanti i campioni di sangue venoso sono stati prelevati al mattino dopo 8 ore di digiuno notturno presso la UOC di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo. I parametri ematochimici di routine (sovra-riportati) sono stati tutti misurati, sia al baseline che dopo 6 e 12 mesi dopo l'intervento di chirurgia bariatrica, con metodologie standard presso il Laboratorio di Biochimica Clinica dell'AOUI di Verona.

I dosaggi sierici di insulina, C-peptide ed adiponectina sono stati eseguiti mediante kits ELISA (Mercodia, Milano) presso il Laboratorio universitario dell'UOC di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo.



In tutti pazienti è stato inoltre eseguito un dosaggio sierico di PCSK-9 mediante l'utilizzo di un kit ELISA (R&D Systems, Milano). Tali dosaggi sono stati eseguiti presso il Dipartimento di Farmacologia dell'Università di Padova (grazie ad una collaborazione con il Prof. Nicola Ferri).

### ***Clamp euglicemico-iperinsulinemico***

Il clamp è stato eseguito in tutti i partecipanti solo al baseline presso la UOC di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo. Tale metodica è la più affidabile per misurare la sensibilità insulinica *in vivo* e consiste nell'innalzare i livelli insulinemici ad un valore prestabilito attraverso un'infusione costante di insulina e nella contemporanea infusione di glucosio per mantenere l'euglicemia (intorno a 90 mg/dL). Il clamp euglicemico-iperinsulinemico era protratto per la durata di 2 ore per raggiungere un pieno effetto dell'insulina, ovvero un equilibrio del sistema ("steady-state"). Il clamp euglicemico prevedeva una velocità di infusione insulinica di  $30 \text{ mU/m}^2 \times \text{min}$ . La misura della sensibilità insulinica fornita dal clamp (definita come "*M*", che sta per glucosio metabolizzato) era calcolata dalla quantità di glucosio infusa nell'unità di tempo durante lo stato stazionario ed espressa in mg/kg di peso x minuto.

### ***Biopsia epatica intra-operatoria***

Tutti gli interventi di chirurgia sono stati eseguiti da un chirurgo esperto dell'U.O.C di Chirurgia Generale e dell'Obesità dell'AOUI di Verona. In tutti i partecipanti il prelievo bioptico epatico è stato eseguito durante l'intervento bariatrico e direttamente processato dall'anatomopatologo, che fissava una parte del campione bioptico in formalina (necessario alla successiva realizzazione dei preparati da utilizzare al microscopio ottico dopo opportune colorazioni per formulare la diagnosi e stadiazione di NAFLD/NASH), mentre una parte del tessuto epatico veniva direttamente congelata a  $-80^{\circ}\text{C}$  (per futuri studi). In tutti i partecipanti tale prelievo bioptico epatico era eseguito solo al baseline. La stadiazione istologica della NAFLD (grading della steatosi, infiammazione, ballooning epatocitario e staging della fibrosi) e la diagnosi di NASH venivano

eseguite da un unico anatomo-patologo, che utilizzava i criteri istologici proposti da Brunt et al. [124] e che non era a conoscenza dei dati clinici e biochimici dei partecipanti. Dalla somma di steatosi + infiammazione + ballooning epatocitario è stato inoltre calcolato il NAS score (NAFLD activity score). La NASH era definita dalla presenza di  $NAS \geq 5$ .

#### ***Approvazione dello studio***

Il protocollo dello studio è stato rivisto ed approvato dal Comitato Etico delle Province di Verona e Rovigo (codice PCSK9-BAR – n. 1485 CESC). Tutti i partecipanti hanno dato il loro consenso informato scritto per la partecipazione allo studio.

### 3.1 ANALISI STATISTICA

Tutte le variabili continue (dato la loro distribuzione non gaussiana) sono espresse come mediana e range interquartile (IQR), mentre le variabili categoriche sono espresse come numero di casi o frequenze. Per esaminare le differenze fra le principali variabili cliniche e biochimiche al baseline nei partecipanti suddivisi in base alla presenza/assenza di NASH (NASH *vs.* no-NASH) od in base alla severità istologica della fibrosi epatica (F3 *vs.* F0-2 combinati) è stato utilizzato il test di Fischer o del chi-quadrato (per le variabili categoriche) ed il test di Mann-Whitney (per le variabili continue). Le differenze dopo 6 e 12 mesi dall'intervento chirurgico riguardanti peso, enzimi epatici e scores non invasivi di fibrosi epatica (rapporto AST/ALT, APRI index e FIB-4 score) nei pazienti, che erano stratificati per NASH e/o fibrosi avanzata al baseline, sono state valutate con il test di Wilcoxon per le variabili continue e con il test di Fischer o del chi-quadrato per le variabili categoriche. Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo. Le elaborazioni statistiche sono state condotte con SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago Illinois, USA).

## 4 RISULTATI

La **Tabella 1** mostra le principali caratteristiche cliniche e biochimiche al baseline dei 28 pazienti obesi, che sono stati arruolati nello studio. I pazienti erano prevalentemente di sesso femminile (n=21, 75%), avevano una età mediana di 41 anni ed un BMI mediano di 45 kg/m<sup>2</sup>. 14% (n=4) di questi pazienti era affetto da diabete tipo 2 (questi 4 pazienti erano tutti trattati con metformina associata con SGLT-2 inibitori e/o insulina in un unico caso), 32% era affetto da dislipidemia, mentre il 50% era affetto da ipertensione arteriosa (la maggioranza dei quali era trattato con ACE-inibitori/sartani e calcio antagonisti). Nell'intero campione, i valori mediani delle transaminasi e GGT circolanti erano nei limiti di norma. Oltre il 60% dei pazienti non riferiva alcun consumo alcolico giornaliero, mentre la restante parte dei pazienti riferiva un consumo alcolico di grado lieve o moderato (comunque sempre <20 g/die nelle femmine e <30 grammi/die nei maschi).

Per quanto riguarda la tipologia dell'intervento chirurgico eseguito, 19 (68%) pazienti sono stati sottoposti a SG, mentre i restanti 9 (32%) pazienti sono stati sottoposti a RYGB.

Dei 28 pazienti inclusi nello studio, 16 (57%) hanno soddisfatto i criteri istologici per una diagnosi di NASH (ossia NAS  $\geq$  5), mentre i restanti 12 (43%) pazienti non avevano NASH al baseline (Figura 1). Di questi 12 pazienti privi di NASH alla biopsia, 8 pazienti avevano steatosi macrovescicolare di grado lieve o severo (NAFL), mentre solo 4 pazienti (pari al 14% del campione totale) erano esenti da NAFLD all'esame istologico al baseline (**Figura 6**).

Per quanto riguarda lo stadio di fibrosi epatica (**Figura 7**), 4 dei 28 pazienti (14.3%) non avevano fibrosi (stadio F0), 14 (50%) pazienti avevano una fibrosi moderata (stadio F2) e 10 (35.7%) pazienti avevano "bridging fibrosis" (stadio F3). Nessuno dei pazienti aveva fibrosi lieve (F1) o cirrosi misconosciuta all'istologia (stadio F4).

Nella **Tabella 2** sono mostrate le caratteristiche al baseline dei pazienti stratificati in base alla presenza di NASH (NASH vs. combinazione di NAFL + no NAFLD alla biopsia epatica, che sono stati accorpati in un unico gruppo data la esigua

numerosità dei soggetti senza NAFLD, n=4). I due gruppi di pazienti erano comparabili per età, sesso, peso corporeo, BMI, massa grassa e pressoché tutte le altre variabili cliniche e biochimiche esaminate (incluso enzimi epatici, rapporto AST/ALT, FIB-4 score, APRI index, HOMA-IR score, adiponectina, PCSK9 e sensibilità insulinica, espressa come M-clamp), mentre differivano significativamente, come in gran parte atteso, per la severità di fibrosi all'istologica epatica, risultando i pazienti con NASH maggiormente gravati da una fibrosi epatica più severa. Tra i due gruppi non vi era differenza fra la tipologia di chirurgia bariatrica adottata (SG vs. RYGB).

La **Tabella 3** mostra le caratteristiche cliniche e biochimiche al baseline dei pazienti stratificati in base alla severità di fibrosi (F3 vs. F0-F2 combinati). I due gruppi erano paragonabili per età, sesso e per la maggior parte delle variabili cliniche e biochimiche esaminate (incluso HOMA-IR score e M-clamp, adiponectina e PCSK9). Tuttavia, i pazienti con fibrosi F3 erano maggiormente ipertesi, avevano valori di AUC-glicemia durante OGTT più elevati ma avevano un peso corporeo ed una massa grassa inferiore rispetto ai pazienti con fibrosi F0-F2; inoltre, i pazienti con fibrosi F3 tendevano anche ad avere valori di transaminasi e GGT circolanti leggermente più elevati (pur in assenza di significative differenze in FIB-4 score, APRI e rapporto AST/ALT fra i due gruppi).

Le **Tablelle 4a e 4b** mostrano le variazioni dopo 6 e 12 mesi dall'intervento di chirurgia bariatrica del peso corporeo, degli enzimi epatici, degli scores non invasivi di fibrosi epatica avanzata (rapporto AST/ALT, FIB-4 score, APRI index) e dei livelli di adiponectina, stratificando i pazienti per presenza/assenza di NASH al baseline. In totale 20 dei 28 (71% del campione) partecipanti inclusi nello studio avevano dati completi per questa analisi. A fronte di un marcato calo ponderale indotto dall'intervento chirurgico si è osservato un significativo aumento di valori circolanti di adiponectina ma non si sono evidenziate significative variazioni né delle transaminasi né degli scores non invasivi di fibrosi avanzata dopo 6 e 12 mesi dall'intervento di chirurgia bariatrica in entrambi i gruppi di pazienti.

Stratificando i partecipanti dello studio sulla base della loro severità di fibrosi epatica al baseline (F0-F2 vs. F3) (**Tabelle 5a e 5 b**), emerge che il gruppo che presentava un grado di fibrosi più severa (F3) aveva valori più bassi di peso corporeo ed adiponectina circolante. A 12 mesi il calo ponderale indotto dall'intervento di chirurgia bariatrica risultava significativo in entrambi i gruppi di pazienti, così come l'aumento dei valori circolanti di adiponectina. Non sono invece emerse variazioni significative dopo 12 mesi dall'intervento bariatrico per quanto riguarda gli enzimi epatici e gli scores non invasivi di fibrosi avanzata.

## 5 DISCUSSIONE

Dei 28 pazienti con obesità severa candidati all'intervento elettivo di chirurgia bariatrica (SG o RYGB), che sono stati inclusi in questo studio pilota, 16 (57%) hanno soddisfatto i criteri istologici per una diagnosi di NASH, mentre i restanti 12 (43%) pazienti non avevano NASH al baseline. Di questi 12 pazienti, che erano privi di NASH alla biopsia, 8 pazienti avevano steatosi macrovescicolare di grado lieve o severo (NAFL), mentre solo 4 pazienti (pari al 14% del campione totale) erano esenti da NAFLD all'esame istologico. Per quanto riguarda il grado di fibrosi epatica, 14 (50%) pazienti avevano una fibrosi moderata (stadio F2) e 10 (35.7%) pazienti avevano "bridging fibrosis" (stadio F3) al baseline. Nessuno dei pazienti aveva una cirrosi precedentemente misconosciuta (stadio F4) all'istologia epatica. Tuttavia, è importante rimarcare nuovamente il fatto che NASH e "bridging fibrosis" sono due condizioni epatiche che sono significativamente associate ad un maggior rischio di progressione verso la cirrosi ed HCC. In particolare, è stato stimato che circa un terzo dei pazienti con "bridging fibrosis" evolve a cirrosi nell'arco temporale di circa 3-5 anni [32].

Pertanto, alla luce della elevata prevalenza di forme istologiche severe di NAFLD (NASH ± fibrosi avanzata) nel nostro campione di pazienti obesi sottoposti ad intervento di chirurgia bariatrica, è indiscutibile che debba essere posta una particolare attenzione nella pratica clinica di routine alla elevata morbilità epatica di questo gruppo di pazienti. Ciò che deve essere quindi ricordato nell'approccio al paziente obeso (che è, tra l'altro, già gravato da molteplici comorbidità cardio-metaboliche) è che la NAFLD si può presentare già nelle sue forme istologiche più severe (NASH ± fibrosi avanzata), pur rimanendo queste forme spesso clinicamente silenti e/o paucisintomatiche e senza accompagnarsi a marcate alterazioni degli enzimi epatici circolanti (transaminasi e GGT) e/o degli scores non invasivi di fibrosi avanzata (rapporto AST/ALT, APRI index e FIB-4 score). Dall'analisi dei nostri dati sembra pertanto ragionevole proporre che la presenza della NAFLD e delle sue forme istologiche più avanzate debba essere sempre indagata nei pazienti obesi, che sono candidati a chirurgia bariatrica, e che molto

probabilmente tale patologia epatica debba essere anche inclusa tra le comorbidità metaboliche associate all'obesità (assieme a diabete tipo 2, ipertensione arteriosa e dislipidemia), quando si valutano le possibili indicazioni al trattamento chirurgico bariatrico in un paziente obeso. A tale riguardo, va per altro ricordato che la presenza di NASH con variabili livelli di fibrosi epatica non solo si associa ad un elevato rischio di sviluppare complicanze epatiche a lungo termine (come cirrosi, scompenso epatico ed HCC) ma anche ad un elevato rischio di sviluppare complicanze cardio-metaboliche, tra cui la malattia cardiovascolare (infarto miocardico ed ictus ischemico), insufficienza renale cronica, diabete tipo 2 ed alcune neoplasia extra-epatiche (tra cui neoplasia del colon-retto ed altre neoplasie gastrointestinali) [125] [126][127][128].

Ciò detto, quando i pazienti del nostro studio venivano suddivisi sulla base della presenza/assenza di NASH al baseline, i due gruppi erano comparabili per età, sesso, peso corporeo, massa grassa e non differivano significativamente per le principali variabili biochimiche esaminate, incluso transaminasi, APRI index, FIB-4 score e sensibilità insulinica (M-clamp ed HOMA-IR score). In maniera analoga, quando suddividevamo i pazienti in base alla severità della fibrosi epatica al baseline (stadio F3 vs. F0-2 combinati), i pazienti con fibrosi F3 erano maggiormente ipertesi, avevano un peso corporeo/massa grassa inferiore ed una maggiore area sotto la curva (AUC) della glicemia durante OGTT rispetto a quelli con fibrosi F0-2, mentre tutte le altre variabili non differivano significativamente tra i due gruppi di pazienti, incluso sensibilità insulinica (M-clamp e HOMA-IR score), enzimi epatici e scores non invasivi di fibrosi avanzata (FIB-4 score, APRI index e rapporto AST/ALT).

Inoltre, in questo studio abbiamo anche documentato che i valori circolanti delle transaminasi e degli scores non invasivi di fibrosi avanzata non hanno dimostrato alcuna significativa variazione dopo 6 e 12 mesi dall' intervento chirurgico rispetto al basale in nessuno dei sottogruppi di pazienti considerati (NASH vs. no-NASH e F3 vs. F0-2), nonostante si sia osservato (come atteso) un consistente calo ponderale in seguito all'intervento bariatrico.

Un risultato del nostro studio che potrebbe sembrare, a prima vista, in apparente controtendenza con i dati disponibili in letteratura è stato il riscontro di un minore



peso corporeo/massa grassa nei pazienti obesi con fibrosi severa (stadio F3) rispetto a quelli con fibrosi F0-2 al baseline. È noto, infatti, che all'aumentare del BMI e della massa grassa aumentino progressivamente anche le complicanze epatiche e siano quindi attesi quadri isto-patologici più avanzati della NAFLD [76]. Una possibile spiegazione di questo risultato potrebbe essere ricercata nei criteri di inclusione del nostro studio. Le caratteristiche infatti che davano accesso alla chirurgia bariatrica nel nostro studio, erano la presenza di un BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> e/o la presenza di BMI  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> con associate comorbidità metaboliche (tra cui ipertensione arteriosa e diabete tipo 2). Non è quindi del tutto inatteso che, come osservato nel nostro studio, i pazienti con un grado meno severo di obesità ma con una maggiore prevalenza di comorbidità metaboliche (quali ipertensione arteriosa e diabete tipo 2, che sono importanti fattori di rischio di fibrosi epatica) siano risultati essere affetti da stadi più avanzati di fibrosi epatica al baseline.

Per quanto riguarda la parte longitudinale del nostro studio (con un periodo di osservazione che è stato protratto fino a 12 mesi dall'intervento di chirurgia bariatrica), stando alle evidenze scientifiche disponibili, era lecito forse attendersi una maggiore riduzione delle transaminasi circolanti e degli scores non-invasivi di fibrosi epatica avanzata dopo l'intervento di chirurgia bariatrica. Tuttavia, a fronte di un marcato calo ponderale indotto dall'intervento chirurgico, non abbiamo osservato alcuna significativa variazione delle transaminasi, FIB-4 score e APRI index, né dopo 6 mesi né dopo 12 mesi, dall'intervento chirurgico in nessuno dei gruppi di pazienti considerati (NASH vs. no-NASH e F3 vs. F0-2). Va sottolineato, tuttavia, il fatto che per il momento questi dati longitudinali dopo 12 mesi di follow-up erano disponibili solo in un sottogruppo di pazienti (20 pazienti) e che i valori (mediani) delle transaminasi plasmatiche e dei principali scores non invasivi di fibrosi avanzata erano sostanzialmente nella norma e non differivano tra i gruppi di pazienti considerati già al baseline. Questo dato sottolinea ulteriormente quanto è già noto anche in letteratura riguardo alla bassa sensibilità e specificità dei livelli circolanti delle transaminasi come marcatori affidabili di forme più severe di NAFLD. Infatti, la presenza o l'assenza di NASH  $\pm$  fibrosi avanzata non può essere valutata specie nella popolazione affetta da obesità (e/o diabete tipo 2) esclusivamente basandosi sulla determinazione

plasmatica delle transaminasi e probabilmente neanche sulla base degli scores non invasivi di fibrosi epatica, che sono stati valutati in questo studio.

I risultati del nostro studio suggeriscono pertanto che gli eventuali miglioramenti della NAFLD/NASH, indotti dalla chirurgia bariatrica, non possono essere monitorizzati esclusivamente sulla base all'andamento delle transaminasi plasmatiche, che tendono a variare nel tempo in maniera spesso indipendente dal sottostante quadro istopatologico epatico. E' ragionevole pensare che la documentazione degli eventuali miglioramenti del quadro istologico epatico, indotti dalla chirurgia bariatrica, necessitino dell'uso di indagini diagnostiche più approfondite e raffinate (come, per esempio, la RMI-PDFE e la RM con elastografia) ed, in taluni casi, possano essere confermati esclusivamente mediante la ripetizione della biopsia epatica post-chirurgica a distanza.

D'altro canto, non sono frequenti i casi in cui nella pratica clinica un sospetto di NASH e/o fibrosi avanzata porti all'esecuzione di un esame diagnostico invasivo come la biopsia epatica, specie in presenza di valori pressoché normali degli enzimi epatici. Per tale motivo, sulla base dei dati presenti in letteratura e dei risultati del nostro studio è ragionevole ipotizzare che un utilizzo più frequente (prima dell'intervento chirurgico) almeno di metodiche di imaging, come il Fibroscan® (elastografia epatica mediante uso di sonde M e, nel nostro caso specifico, mediante l'uso di sonde XL che sono maggiormente adatte per la popolazione obesa), possa costituire un ragionevole e sufficientemente accurato approccio per la diagnosi ed il monitoraggio della NAFLD e della severità di fibrosi epatica nei pazienti obesi che devono essere sottoposti a chirurgia bariatrica [129]. La elastografia epatica rappresenta, attualmente, la metodica di riferimento per la stadiazione non invasiva delle epatopatie croniche, incluso la NAFLD. Essa utilizza una fonte di vibrazioni a bassa frequenza (50 Hz), che sono emesse attraverso una sonda trasduttore ad ultrasuoni con approccio intercostale e che inducono la propagazione di un'onda di compressione attraverso il tessuto epatico sottostante. Acquisizioni pulsate mediante ultrasuoni vengono utilizzate per seguire la propagazione dell'onda e per misurare la sua velocità (più il parenchima epatico è "rigido", maggiore sarà la velocità di trasmissione dell'onda). Quest' ultima viene poi convertita in un valore di rigidità (chiamata

*stiffness* epatica), che è espressa in kilopascal (kPa). Questa metodica ha il vantaggio di essere indolore, rapida, ripetibile e facile da attuare al letto del malato. Il Fibroscan® possiede una buona accuratezza nella diagnosi di fibrosi avanzata e cirrosi, e anche nell'esclusione della fibrosi significativa. I valori di cut-offs ottimali per la diagnosi di fibrosi avanzata e cirrosi differiscono in base all'epatopatia cronica di base. Per quanto riguarda la NAFLD, i migliori cut-offs di *stiffness* epatica sono risultati essere 7.0 kPa, 8.7 kPa e 10.3 kPa, che indicano rispettivamente la presenza di fibrosi significativa, fibrosi avanzata e cirrosi. Una nuova e promettente applicazione del Fibroscan®, basata sul grado di attenuazione acustica al passaggio degli ultrasuoni nel tessuto, permette anche il calcolo di un nuovo parametro, il CAP (controlled attenuation parameter). Questo parametro correla in maniera accurata con il grado di steatosi epatica e è quindi in grado di quantificare in modo non invasivo i diversi gradi di steatosi [129].

Esistono anche altre metodiche di imaging di più recente introduzione, come la elastografia ad ultrasuoni bidimensionale in tempo reale a 'shear wave' (2D SWE) e la elastografia in risonanza magnetica. In particolare, quest'ultima metodica combina la capacità dell'elastografia di fornire informazioni riguardo al parenchima epatico ai vantaggi della risonanza magnetica, che permette la valutazione accurata del fegato in toto e non solo di una sua minima porzione. La disponibilità della elastografia in risonanza magnetica risulta tuttavia ancora limitata, in particolare in Italia.

Nel nostro studio abbiamo anche valutato l'adiponectina al baseline e dopo 6 e 12 mesi dall'intervento chirurgico. Come discusso in precedenza, l'adiponectina è una citochina prodotta dal tessuto adiposo che svolge un ruolo chiave nella regolazione dell'omeostasi energetica. Gli squilibri nella produzione di adipochine, incluso adiponectina, portano all'accumulo di grasso ectopico, incluso nel parenchima epatico [130]. Bugianesi et al. [131] hanno riportato un'associazione inversa tra i livelli di adiponectina e il grado di steatosi in campioni di biopsie epatiche, mentre altri autori (Targher et al. 2006 [132]; Argentou et al. 2009 [133]) hanno riportato una relazione inversa tra questa citochina non solo con il grado di steatosi ma anche con la severità della fibrosi epatica. In uno studio del 2004 Targher et al. hanno dimostrato che

l'ipoadiponectinemia è strettamente ed indipendentemente associata con la NAFLD in individui obesi, suggerendo che l'ipoadiponectinemia potrebbe essere, almeno in parte, responsabile della steatosi epatica in questi soggetti [134]. I livelli circolanti di adiponectina sono stati associati ad un aumento della probabilità di avere NAFLD e di sviluppare la NASH [135].

In linea con i dati della letteratura, i livelli basali di adiponectina, nell'intero campione dei pazienti inclusi nel nostro studio, erano bassi (**Tabella 1**). Tuttavia, non abbiamo rilevato alcuna differenza statisticamente significativa nei livelli di adiponectina quando i pazienti erano suddivisi in base alla presenza di NASH (NASH vs. no-NASH). Analogamente, suddividendo i pazienti in base alla severità di fibrosi epatica al baseline (F3 vs. F0-F2), i valori di adiponectina (seppur tendenzialmente più bassi) non erano significativamente differenti nel gruppo con fibrosi F3. La numerosità del nostro gruppo di pazienti è più piccola rispetto ad altri studi, e questo potrebbe essere in parte il motivo per cui non è stata trovata una significativa differenza tra i due gruppi. Alcuni studi che hanno valutato l'adiponectina nei pazienti obesi sottoposti ad intervento di chirurgia bariatrica, hanno dimostrato che l'adiponectina aumenta in seguito alla perdita di peso dopo procedura di chirurgia bariatrica [136]. Anche nel nostro studio i livelli circolanti di adiponectina sono aumentati significativamente dopo 6 e 12 mesi dall'intervento di chirurgia bariatrica. Per ottenere un miglioramento significativo dei livelli circolanti di adiponectina Coughlin et al. [123] hanno suggerito che è necessaria una perdita di peso di circa il 10%, una soglia che è ottenibile anche con il miglioramento dello stile di vita ed i farmaci per il trattamento dell'obesità ma che spesso non viene mantenuta nel tempo, a differenza del calo ponderale indotto attraverso la chirurgia bariatrica.

Il principale punto di forza del nostro studio è l'utilizzo in tutti i partecipanti della biopsia epatica intra-operatoria per la diagnosi e stadiazione della NAFLD al baseline e la sua lettura da parte di un unico anatomopatologo, che non era a conoscenza dei dati clinici e biochimici dei partecipanti.

Le principali limitazioni di questo studio pilota sono rappresentate dalla numerosità ridotta del campione esaminato e dalla mancanza di una biopsia epatica di controllo dopo 6 o 12 mesi dalla chirurgia bariatrica, che non ci

permette quindi di esaminare con accuratezza il grado di miglioramento e/o risoluzione delle principali caratteristiche istopatologiche della NAFLD (steatosi, infiammazione e fibrosi epatica).

## 6 CONCLUSIONI

In questo nostro studio, che includeva pazienti con obesità severa sottoposti ad intervento elettivo di chirurgia bariatrica (SG e RYGB), abbiamo riscontrato una prevalenza notevolmente elevata di NAFLD (circa 85% di questi pazienti risultava affetto di una qualche forma istologica di NAFLD). In particolare, alla biopsia epatica, che è stata eseguita durante l'intervento chirurgico, quasi il 60% di questi pazienti aveva una diagnosi istologica di NASH e circa il 35% aveva già una fibrosi avanzata ("bridging fibrosis"), nonostante i valori circolanti delle transaminasi e quelli dei principali scores non-invasivi di fibrosi avanzata (rapporto AST/ALT, APRI index e FIB-4 score) fossero sostanzialmente nei limiti di norma nella maggior parte di questi pazienti, sia al basale che dopo 6 e 12 mesi dall'intervento chirurgico. Questi risultati documentano chiaramente che la NAFLD è già presente nelle sue forme istologiche più avanzate (NASH ± fibrosi avanzata) nei pazienti con obesità severa, pur rimanendo queste forme spesso clinicamente silenti o paucisintomatiche e senza accompagnarsi a significative alterazioni delle transaminasi e degli scores non-invasivi di fibrosi avanzata. Ciò suggerisce la necessità di una diagnosi precoce e tempestiva delle forme più avanzate della NAFLD (che sono quelle associate ad un rischio più elevato di progressione verso la cirrosi, lo scompenso epatico e l'HCC) nei pazienti obesi che sono candidati a chirurgia bariatrica, sia mediante l'esecuzione prima dell'intervento chirurgico di una elastografia epatica (Fibroscan® + CAP con l'uso di sonde XL) sia mediante l'esecuzione di una biopsia epatica, che dovrebbe essere sempre eseguita durante l'intervento chirurgico. Le osservazioni di questo studio pilota necessitano senza dubbio di essere ulteriormente confermate in casistiche più ampie e con follow-up più prolungati.

## 7 BIBLIOGRAFIA

- [1] Z. Younossi *et al.*, “Global burden of NAFLD and NASH: Trends, predictions, risk factors and prevention,” *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, vol. 15, no. 1. pp. 11–20, 2018.
- [2] European Association for the Study of the Liver (EASL), “EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease,” *Diabetologia*, vol. 59, no. 6. pp. 1121–1140, 2016.
- [3] N. Chalasani *et al.*, “The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases,” *Hepatology*, vol. 67, no. 1. pp. 328–357, 2018.
- [4] V. G. Athyros *et al.*, “The use of statins alone, or in combination with pioglitazone and other drugs, for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis and related cardiovascular risk. An Expert Panel Statement,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 71. pp. 17–32, 2017.
- [5] G. Musso *et al.*, “Association of Non-alcoholic Fatty Liver Disease with Chronic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-analysis,” *PLoS Medicine*, vol. 11, no. 7. 2014.
- [6] Z. M. Younossi, A. B. Koenig, D. Abdelatif, Y. Fazel, L. Henry, and M. Wymer, “Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes,” *Hepatology*, vol. 64, no. 1. pp. 73–84, 2016.
- [7] C. I. Ardern, P. T. Katzmarzyk, I. Janssen, T. S. Church, and S. N. Blair, “Revised adult treatment panel III guidelines and cardiovascular disease mortality in men attending a preventive medical clinic,” *Circulation*, vol. 112, no. 10. pp. 1478–1485, 2005.
- [8] S. E. Keating, D. A. Hackett, J. George, and N. A. Johnson, “Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis,” *Journal of Hepatology*, vol. 57, no. 1. pp. 157–166, 2012.
- [9] Z. M. Younossi *et al.*, “The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis,” *Journal of Hepatology*, vol. 71, no. 4. pp. 793–801, 2019.
- [10] Z. M. Younossi *et al.*, “Economic and clinical burden of nonalcoholic steatohepatitis in patients with type 2 diabetes in the U.S.,” *Diabetes Care*, vol.

- 43, no. 2. pp. 283–289, 2020.
- [11] J. D. Browning *et al.*, “Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity,” *Hepatology*, vol. 40, no. 6. pp. 1387–1395, 2004.
- [12] E. M. Koehler *et al.*, “Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in the elderly: Results from the Rotterdam study,” *Journal of Hepatology*, vol. 57, no. 6. pp. 1305–1311, 2012.
- [13] S. Polyzos, J. Kountouras, and C. Zavos, “Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Pathogenetic Roles of Insulin Resistance and Adipocytokines,” *Current Molecular Medicine*, vol. 9, no. 3. pp. 299–314, 2009.
- [14] C. Koliaki *et al.*, “Adaptation of Hepatic Mitochondrial Function in Humans with Non-Alcoholic Fatty Liver Is Lost in Steatohepatitis,” *Cell Metabolism*, vol. 21, no. 5. pp. 739–746, 2015.
- [15] K. Yamaguchi *et al.*, “Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis,” *Hepatology*, vol. 45, no. 6. pp. 1366–1374, 2007.
- [16] J. P. Arab, M. Arrese, and M. Trauner, “Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease,” *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, vol. 13. pp. 321–350, 2018.
- [17] P. S.A., K. J., D. G., Z. C., and M. C.S., “The emerging role of endocrine disruptors in pathogenesis of insulin resistance: A concept implicating nonalcoholic fatty liver disease,” *Current Molecular Medicine*, vol. 12, no. 1. pp. 68–82, 2012.
- [18] E. Buzzetti, M. Pinzani, and E. A. Tsochatzis, “The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD),” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 65, no. 8. pp. 1038–1048, 2016.
- [19] S. A. Polyzos, J. Kountouras, and C. S. Mantzoros, “Adipose tissue, obesity and non-alcoholic fatty liver disease,” *Minerva Endocrinologica*, vol. 42, no. 2. pp. 92–108, 2017.
- [20] A. Baranova, A. Bireddinc, and Z. M. Younossi, “Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease,” *Adipose Tissue and Adipokines in Health and Disease: Second Edition*. pp. 249–283, 2014.
- [21] M. A. Tilg H, “Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity.,” *Nature reviews. Immunology*, vol. 6, no. 10. pp. 772–783, 2006.
- [22] S. A. Polyzos, K. A. Toulis, D. G. Goulis, C. Zavos, and J. Kountouras, “Serum

- total adiponectin in nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 60, no. 3. pp. 313–326, 2011.
- [23] E. Tsochatzis, G. V. Papatheodoridis, and A. J. Archimandritis, “The evolving role of leptin and adiponectin in chronic liver diseases,” *American Journal of Gastroenterology*, vol. 101, no. 11. pp. 2629–2640, 2006.
- [24] S. A. Polyzos, K. N. Aronis, J. Kountouras, D. D. Raptis, M. F. Vasiloglou, and C. S. Mantzoros, “Circulating leptin in non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis,” *Diabetologia*, vol. 59, no. 1. pp. 30–43, 2016.
- [25] A. Guilherme, J. V. Virbasius, V. Puri, and M. P. Czech, “Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 9, no. 5. pp. 367–377, 2008.
- [26] S. A. Polyzos, J. Kountouras, C. Zavos, and G. Deretzi, “The potential adverse role of leptin resistance in nonalcoholic fatty liver disease: A hypothesis based on critical review of the literature,” *Journal of Clinical Gastroenterology*, vol. 45, no. 1. pp. 50–54, 2011.
- [27] K. I.A., M. L.S., and M. C.J., “Gut-liver axis, nutrition, and non-alcoholic fatty liver disease,” *Clinical Biochemistry*, vol. 48, no. 13–14. pp. 923–930, 2015.
- [28] J. P. Arab, S. J. Karpen, P. A. Dawson, M. Arrese, and M. Trauner, “Bile acids and nonalcoholic fatty liver disease: Molecular insights and therapeutic perspectives,” *Hepatology*, vol. 65, no. 1. pp. 350–362, 2017.
- [29] R. Xu, A. Tao, S. Zhang, Y. Deng, and G. Chen, “Association between Patatin-Like Phospholipase Domain Containing 3 Gene (PNPLA3) Polymorphisms and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A HuGE Review and Meta-Analysis,” *Scientific Reports*, vol. 5. 2015.
- [30] H. Mahdessian *et al.*, “TM6SF2 is a regulator of liver fat metabolism influencing triglyceride secretion and hepatic lipid droplet content,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 111, no. 24. pp. 8913–8918, 2014.
- [31] R. Pais *et al.*, “A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver,” *Journal of Hepatology*, vol. 59, no. 3. pp. 550–556, 2013.
- [32] S. Singh, A. M. Allen, Z. Wang, L. J. Prokop, M. H. Murad, and R. Loomba, “Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver vs Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-analysis of Paired-Biopsy



- Studies,” *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 13, no. 4. pp. 643-654.e9, 2015.
- [33] G. A. Makar, “The NAFLD Fibrosis Score: A Noninvasive System That Identifies Liver Fibrosis in Patients with NAFLD,” *Yearbook of Gastroenterology*, vol. 2007. pp. 281–283, 2007.
- [34] P. N. Newsome *et al.*, “FibroScan-AST (FAST) score for the non-invasive identification of patients with non-alcoholic steatohepatitis with significant activity and fibrosis: a prospective derivation and global validation study,” *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, vol. 5, no. 4. pp. 362–373, 2020.
- [35] R. Hernaez *et al.*, “Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: A meta-analysis,” *Hepatology*, vol. 54, no. 3. pp. 1082–1090, 2011.
- [36] E. Chartampilas, “Imaging of nonalcoholic fatty liver disease and its clinical utility,” *Hormones*, vol. 17, no. 1. pp. 69–81, 2018.
- [37] Y. Sumida, A. Nakajima, and Y. Itoh, “Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis,” *World Journal of Gastroenterology*, vol. 20, no. 2. pp. 475–485, 2014.
- [38] G. Bedogni *et al.*, “The fatty liver index: A simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population,” *BMC Gastroenterology*, vol. 6. 2006.
- [39] G. Calori *et al.*, “Fatty liver index and mortality: The cremona study in the 15th year of follow-up,” *Hepatology*, vol. 54, no. 1. pp. 145–152, 2011.
- [40] G. Xiao, S. Zhu, X. Xiao, L. Yan, J. Yang, and G. Wu, “Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis,” *Hepatology*, vol. 66, no. 5. pp. 1486–1501, 2017.
- [41] A. Horn *et al.*, “Increased risk of mortality by fibrosis stage in non-alcoholic fatty liver disease: Systematic Review and Meta-analysis,” *Hepatology*. pp. 1–26, 2017.
- [42] M. Sayiner *et al.*, “Variables Associated With Inpatient and Outpatient Resource Utilization Among Medicare Beneficiaries With Nonalcoholic Fatty Liver Disease With or Without Cirrhosis,” *Journal of Clinical Gastroenterology*, vol. 51, no. 3. pp. 254–260, 2017.
- [43] S. A. Polyzos, J. Kountouras, C. Zavos, and G. Deretzi, “Nonalcoholic fatty liver disease: Multimodal treatment options for a pathogenetically multiple-hit disease,” *Journal of Clinical Gastroenterology*, vol. 46, no. 4. pp. 272–284, 2012.

- [44] G. Marchesini *et al.*, “EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease,” *Obesity Facts*, vol. 9, no. 2. pp. 65–90, 2016.
- [45] P. Hamurcu Varol, E. Kaya, E. Alphan, and Y. Yilmaz, “Role of intensive dietary and lifestyle interventions in the treatment of lean nonalcoholic fatty liver disease patients,” *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. pp. 1352–1357, 2020.
- [46] S. A. Polyzos, J. Kountouras, and C. S. Mantzoros, “Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 92. pp. 82–97, 2019.
- [47] S. A. Polyzos and C. S. Mantzoros, “Adiponectin as a target for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis with thiazolidinediones: A systematic review,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 65, no. 9. pp. 1297–1306, 2016.
- [48] D. Barb, P. Portillo-Sanchez, and K. Cusi, “Pharmacological management of nonalcoholic fatty liver disease,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 65, no. 8. pp. 1183–1195, 2016.
- [49] I. Amanullah, Y. H. Khan, I. Anwar, A. Gulzar, T. H. Mallhi, and A. A. Raja, “Effect of Vitamin E in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials,” *Postgraduate Medical Journal*, vol. 95, no. 1129. pp. 601–611, 2019.
- [50] R. M. Sánchez, “Pioglitazone, vitamin E or placebo for nonalcoholic steatohepatitis,” *Revista Clínica Española*, vol. 210, no. 11. pp. 581–581, 2010.
- [51] S. Chitturi *et al.*, “The Asia–Pacific Working Party on Non-alcoholic Fatty Liver Disease guidelines 2017—Part 2: Management and special groups,” *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, vol. 33, no. 1. pp. 86–98, 2018.
- [52] V. Venetsanaki, Z. Karabouta, and S. A. Polyzos, “Farnesoid X nuclear receptor agonists for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis,” *European Journal of Pharmacology*, vol. 863. 2019.
- [53] Z. M. Younossi *et al.*, “Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial,” *The Lancet*, vol. 394, no. 10215. pp. 2184–2196, 2019.
- [54] S. A. Polyzos, J. Kountouras, and C. S. Mantzoros, “Obeticholic acid for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: Expectations and concerns,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 104. 2020.
- [55] V. Ratziu *et al.*, “Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated

- Receptor- $\alpha$  and - $\delta$ , Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis Without Fibrosis Worsening,” *Gastroenterology*, vol. 150, no. 5. pp. 1147-1159.e5, 2016.
- [56] S. L. F. 6 Eric Lefebvre 1, Graeme Moyle 2, Ran Reshef 3, Lee P Richman 4, Melanie Thompson 5, Feng Hong 6, Hsin-L Chou 6, Taishi Hashiguchi 7, Craig Plato 8, Dominic Poulin 9, Toni Richards 8, Hiroyuki Yoneyama 7, Helen Jenkins 1, Grushenka Wolfgang 10, “Antifibrotic Effects of the Dual CCR2\_CCR5 Antagonist Cenicriviroc in Animal Models of Liver and Kidney Fibrosis -.” p. 11(6), 2016.
- [57] A. Sanyal *et al.*, “Pegbelfermin (BMS-986036), a PEGylated fibroblast growth factor 21 analogue, in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2a trial,” *The Lancet*, vol. 392, no. 10165. pp. 2705–2717, 2018.
- [58] S. A. Harrison *et al.*, “Resmetirom (MGL-3196) for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial,” *The Lancet*, vol. 394, no. 10213. pp. 2012–2024, 2019.
- [59] S. A. Polyzos and C. S. Mantzoros, “Leptin in Health and Disease: Facts and Expectations at its Twentieth Anniversary,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 64, no. 1. pp. 5–12, 2015.
- [60] F. Magkos and C. S. Mantzoros, “Body fat redistribution and metabolic abnormalities in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy: Novel insights into pathophysiology and emerging opportunities for treatment,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 60, no. 6. pp. 749–753, 2011.
- [61] K. L. Donnelly, C. I. Smith, S. J. Schwarzenberg, J. Jessurun, M. D. Boldt, and E. J. Parks, “Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease,” *Journal of Clinical Investigation*, vol. 115, no. 5. pp. 1343–1351, 2005.
- [62] N. Mendez-Sanchez, V. C. Cruz-Ramon, O. L. Ramirez-Perez, J. P. Hwang, B. Barranco-Fragoso, and J. Cordova-Gallardo, “New aspects of lipotoxicity in nonalcoholic steatohepatitis,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 7. 2018.
- [63] M. Nati, D. Haddad, A. L. Birkenfeld, C. A. Koch, T. Chavakis, and A. Chatzigeorgiou, “The role of immune cells in metabolism-related liver inflammation and development of non-alcoholic steatohepatitis (NASH),” *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, vol. 17, no. 1. pp. 29–39, 2016.
- [64] P. Angulo, M. V. Machado, and A. M. Diehl, “Fibrosis in nonalcoholic fatty liver

- disease: Mechanisms and clinical implications,” *Seminars in Liver Disease*, vol. 35, no. 2. pp. 132–145, 2015.
- [65] B. G., M. L., M. F., T. C., M. G., and B. S., “Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: The dionysos nutrition and liver study,” *Hepatology*, vol. 42, no. 1. pp. 44–52, 2005.
- [66] D. N. Amarapurkar, E. Hashimoto, L. A. Lesmana, J. D. Sollano, P. J. Chen, and K. L. Goh, “How common is non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region and are there local differences?,” *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, vol. 22, no. 6. pp. 788–793, 2007.
- [67] S. Bellentani *et al.*, “Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in northern Italy,” *Annals of Internal Medicine*, vol. 132, no. 2. pp. 112–117, 2000.
- [68] C. D. Williams *et al.*, “Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: A prospective study,” *Gastroenterology*, vol. 140, no. 1. pp. 124–131, 2011.
- [69] J. P. Ong *et al.*, “Predictors of nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in morbidly obese patients,” *Obesity Surgery*, vol. 15, no. 3. pp. 310–315, 2005.
- [70] Y. Eguchi *et al.*, “Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: A multicenter large retrospective study,” *Journal of Gastroenterology*, vol. 47, no. 5. pp. 586–595, 2012.
- [71] R. S. Chang Y, Jung HS, Cho J, Zhang Y, Yun KE, Lazo M, Pastor-Barriuso R, Ahn J, Kim CW, Rampal S, Cainzos-Achirica M, Zhao D, Chung EC, Shin H, Guallar E, “metabolically healthy obesity and the development of chang - Search Results -.” pp. 1133–1140, 2016.
- [72] B. W. 1 L Li 1, D-W Liu 2, H-Y Yan 3, Z-Y Wang 4, S-H Zhao 1, “Obesity is an independent risk factor for non-alcoholic fatty liver disease\_ evidence from a meta-analysis of 21 cohort studies -.” pp. 510–519, 2016.
- [73] C. L. 1 Qing Pang 1, Jing-Yao Zhang 1, Si-Dong Song 1, Kai Qu 1, Xin-Sen Xu 1, Su-Shun Liu 1, “Central obesity and nonalcoholic fatty liver disease risk after adjusting for body mass index -.” pp. 1650–1662, 2015.
- [74] H. B. E.-S. 5 Fasiha Kanwal 1, Jennifer R Kramer 2, Zhigang Duan 2, Xiaoying Yu 3, Donna White 4, “Trends in the Burden of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a United States Cohort of Veterans -.” pp. 301–308, 2016.
- [75] G. D. Stergios A Polyzos 1, Jannis Kountouras, Christos Zavos, “Nonalcoholic

- fatty liver disease\_ multimodal treatment options for a pathogenetically multiple-hit disease -." pp. 272–284, 2012.
- [76] J. C. F. Leung *et al.*, “Histological severity and clinical outcomes of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese patients,” *Hepatology*, vol. 65, no. 1. pp. 54–64, 2017.
- [77] S. Sookoian and C. J. Pirola, “Systematic review with meta-analysis: the significance of histological disease severity in lean patients with nonalcoholic fatty liver disease,” *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, vol. 47, no. 1. pp. 16–25, 2018.
- [78] A. L. Fracanzani *et al.*, “Liver and Cardiovascular Damage in Patients With Lean Nonalcoholic Fatty Liver Disease, and Association With Visceral Obesity,” *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 15, no. 10. pp. 1604-1611.e1, 2017.
- [79] L. A. Adams *et al.*, “The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: A population-based cohort study,” *Gastroenterology*, vol. 129, no. 1. pp. 113–121, 2005.
- [80] M. Machado, P. Marques-Vidal, and H. Cortez-Pinto, “Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery,” *Journal of Hepatology*, vol. 45, no. 4. pp. 600–606, 2006.
- [81] C. Boza *et al.*, “Predictors of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in obese patients undergoing gastric bypass,” *Obesity Surgery*, vol. 15, no. 8. pp. 1148–1153, 2005.
- [82] E. E. Calle, C. Rodriguez, K. Walker-Thurmond, and M. J. Thun, “Overweight, Obesity, and Mortality from Cancer in a Prospectively Studied Cohort of U.S. Adults,” *New England Journal of Medicine*, vol. 348, no. 17. pp. 1625–1638, 2003.
- [83] S. Nair, A. Mason, J. Eason, G. Loss, and R. P. Perrillo, “Is obesity an independent risk factor for hepatocellular carcinoma in cirrhosis?,” *Hepatology*, vol. 36, no. 1. pp. 150–155, 2002.
- [84] P. R.B., W. R.J., A. A., and H. S.A., “Hepatocellular Carcinoma in the Setting of Non-cirrhotic Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Metabolic Syndrome: US Experience,” *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 60, no. 10. pp. 3142–3148, 2015.
- [85] V. Yumuk *et al.*, “European Guidelines for Obesity Management in Adults,” *Obesity Facts*, vol. 8, no. 6. pp. 402–424, 2015.

- [86] S. Zelber-Sagi *et al.*, “A double-blind randomized placebo-controlled trial of orlistat for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease.,” *Clin Gastroenterol Hepatol*, vol. 4, no. 5. pp. 639–644.
- [87] N. Assy, O. Hussein, and Z. Abassi, “Weight loss induced by orlistat reverses fatty infiltration and improves hepatic fibrosis in obese patients with non-alcoholic steatohepatitis (Gut (2007) 56, (443-444)),” *Gut*, vol. 57, no. 4. p. 560, 2008.
- [88] Y. Eguchi *et al.*, “Pilot study of liraglutide effects in non-alcoholic steatohepatitis and non-alcoholic fatty liver disease with glucose intolerance in Japanese patients (LEAN-J),” *Hepatology Research*, vol. 45, no. 3. pp. 269–278, 2015.
- [89] H. Huang, P. H. Park, M. R. McMullen, and L. E. Nagy, “Mechanisms for the anti-inflammatory effects of adiponectin in macrophages,” *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, vol. 23, no. SUPPL. 1. 2008.
- [90] M. Adler *et al.*, “Intrahepatic natural killer t cell populations are increased in human hepatic steatosis,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 17, no. 13, pp. 1725–1731, 2011.
- [91] M. H. Jarrar *et al.*, “Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease,” *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, vol. 27, no. 5. pp. 412–421, 2008.
- [92] M. C. Wulster-Radcliffe, K. M. Ajuwon, J. Wang, J. A. Christian, and M. E. Spurlock, “Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 316, no. 3. pp. 924–929, 2004.
- [93] M. Kumada *et al.*, “Adiponectin Specifically Increased Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Through Interleukin-10 Expression in Human Macrophages,” *Circulation*, vol. 109, no. 17, pp. 2046–2049, 2004.
- [94] A. M. Wolf, D. Wolf, H. Rumpold, B. Enrich, and H. Tilg, “Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 323, no. 2. pp. 630–635, 2004.
- [95] C. Bertolani and F. Marra, “Role of Adipocytokines in Hepatic Fibrosis,” *Current Pharmaceutical Design*, vol. 16, no. 17. pp. 1929–1940, 2010.
- [96] J. A. Handy *et al.*, “Adiponectin inhibits leptin signalling via multiple mechanisms to exert protective effects against hepatic fibrosis,” *Biochemical Journal*, vol. 440, no. 3. pp. 385–395, 2011.
- [97] K. Tomita *et al.*, “Hepatic AdipoR2 signaling plays a protective role against

- progression of nonalcoholic steatohepatitis in mice,” *Hepatology*, vol. 48, no. 2. pp. 458–473, 2008.
- [98] L. P. Ren *et al.*, “Differing endoplasmic reticulum stress response to excess lipogenesis versus lipid oversupply in relation to hepatic steatosis and insulin resistance,” *PLoS ONE*, vol. 7, no. 2. 2012.
- [99] F. Nassir and J. A. Ibdah, “Role of mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 15, no. 5. pp. 8713–8742, 2015.
- [100] T. Yamauchi *et al.*, “Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions,” *Nature Medicine*, vol. 13, no. 3. pp. 332–339, 2007.
- [101] S. Deng *et al.*, “UCP2 inhibits ROS-mediated apoptosis in A549 under hypoxic conditions,” *PLoS ONE*, vol. 7, no. 1. 2012.
- [102] S. C. Yushi Bai 1, Hiroki Onuma, Xu Bai, Alexander V Medvedev, Mary Misukonis, J Brice Weinberg, Wenhong Cao, Jacques Robidoux, Lisa M Floering, Kiefer W Daniel, “Persistent nuclear factor-kappa B activation in Ucp2-/- mice leads to enhanced nitric oxide and inflammatory cytokine production - PubMed.” .
- [103] N. Foschi, D., De Luca, M., Sarro, G., Bernante, P., Zappa, M. A., Moroni, R., ... & Di Lorenzo, “Linee guida di chirurgia dell’obesità,” *Soc. Di Chir. Dell’Obesita’(Sicob)*, pp. 1–82, 2016.
- [104] I. Kehagias, A. Zygomalas, D. Karavias, and S. Karamanakos, “Sleeve gastrectomy: have we finally found the holy grail of bariatric surgery? A review of the literature,” *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, vol. 20, no. 23, pp. 4930–4942, 2016.
- [105] N. N.T. and V. J.E., “Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: State of the art,” *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, vol. 14, no. 3. pp. 160–169, 2017.
- [106] G. Lassailly *et al.*, “Bariatric Surgery Provides Long-term Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis and Regression of Fibrosis,” *Gastroenterology*, vol. 159, no. 4, pp. 1290-1301.e5, 2021.
- [107] T. K. Fakhry, R. Mhaskar, T. Schwitalla, E. Muradova, J. P. Gonzalvo, and M. M. Murr, “Bariatric surgery improves nonalcoholic fatty liver disease: a contemporary systematic review and meta-analysis,” *Surg. Obes. Relat. Dis.*, vol. 15, no. 3, pp. 502–511, 2019.
- [108] R. R. Mummadi, K. S. Kasturi, S. Chennareddygar, and G. K. Sood, “Effect of

- Bariatric Surgery on Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Systematic Review and Meta-Analysis,” *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 6, no. 12. pp. 1396–1402, 2008.
- [109] N. C. Chavez-Tapia, F. I. Tellez-Avila, T. Barrientos-Gutierrez, N. Mendez-Sanchez, J. Lizardi-Cervera, and M. Uribe, “Bariatric surgery for non-alcoholic steatohepatitis in obese patients,” *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2010.
- [110] F. Nickel *et al.*, “Bariatric Surgery as an Efficient Treatment for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in a Prospective Study with 1-Year Follow-up: BariScan Study,” *Obesity Surgery*, vol. 28, no. 5. pp. 1342–1350, 2018.
- [111] K. Fjeldborg, S. B. Pedersen, H. J. Møller, and B. Richelsen, “Reduction in serum fibroblast growth factor-21 after gastric bypass is related to changes in hepatic fat content,” *Surgery for Obesity and Related Diseases*, vol. 13, no. 9. pp. 1515–1523, 2017.
- [112] Y. Lee *et al.*, “Complete Resolution of Nonalcoholic Fatty Liver Disease After Bariatric Surgery: A Systematic Review and Meta-analysis,” *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 17, no. 6. pp. 1040-1060.e11, 2019.
- [113] A. Mantovani and A. Dalbeni, “Treatments for nafld: State of art,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 5, pp. 1–27, 2021.
- [114] S. A. Polyzos, J. Kountouras, and C. S. Mantzoros, “Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics,” *Metabolism.*, vol. 92, no. 2019, pp. 82–97, 2019.
- [115] N. Hosogai *et al.*, “Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation,” *Diabetes*, vol. 56, no. 4, pp. 901–911, 2007.
- [116] M. Askarpour *et al.*, “Effect of Bariatric Surgery on the Circulating Level of Adiponectin, Chemerin, Plasminogen Activator Inhibitor-1, Leptin, Resistin, and Visfatin: A Systematic Review and Meta-Analysis,” *Horm. Metab. Res.*, vol. 52, no. 4, pp. 207–215, 2020.
- [117] G. H. Ballantyne, A. Gumbs, and I. M. Modlin, “Changes in insulin resistance following bariatric surgery and the adipoinular axis: Role of the adipocytokines, leptin, adiponectin and resistin,” *Obes. Surg.*, vol. 15, no. 5, pp. 692–699, 2005.
- [118] U. A. Marie Guldstrand 1, Bo Ahrén, “Improved beta-cell function after standardized weight reduction in severely obese subjects - PubMed.” .
- [119] M. Faraj, P. J. Havel, S. Phélis, D. Blank, A. D. Sniderman, and K. Cianflone, “Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and



- after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 88, no. 4. pp. 1594–1602, 2003.
- [120] C. Pender *et al.*, “Muscle insulin receptor concentrations in obese patients post bariatric surgery: Relationship to hyperinsulinemia,” *International Journal of Obesity*, vol. 28, no. 3. pp. 363–369, 2004.
- [121] J. Vendrell *et al.*, “Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: Relationships in obesity,” *Obesity Research*, vol. 12, no. 6. pp. 962–971, 2004.
- [122] K. L. Butner, S. M. Nickols-Richardson, S. F. Clark, W. K. Ramp, and W. G. Herbert, “A review of weight loss following Roux-en-Y gastric bypass vs restrictive bariatric surgery: Impact on adiponectin and insulin,” *Obes. Surg.*, vol. 20, no. 5, pp. 559–568, 2010.
- [123] C. C. Coughlin *et al.*, “Effect of marked weight loss on adiponectin gene expression and plasma concentrations,” *Obesity*, vol. 15, no. 3. pp. 640–645, 2007.
- [124] H. Elokda, S. Y. Chai, D. Ho, and T. Sulkowski, “Design and synthesis of tricyclic derivatives as high density lipoprotein cholesterol enhancers,” *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 11, no. 3, pp. 339–342, 2001.
- [125] G. Targher, C. D. Byrne, and H. Tilg, “NAFLD and increased risk of cardiovascular disease: Clinical associations, pathophysiological mechanisms and pharmacological implications,” *Gut*, vol. 69, no. 9. pp. 1691–1705, 2020.
- [126] A. Mantovani *et al.*, “Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of incident extrahepatic cancers: A meta-analysis of observational cohort studies,” *Gut*. 2021.
- [127] A. Mantovani *et al.*, “Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident chronic kidney disease: An updated meta-analysis,” *Gut*. 2020.
- [128] A. Mantovani, G. Petracca, G. Beatrice, H. Tilg, C. D. Byrne, and G. Targher, “Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident diabetes mellitus: an updated meta-analysis of 501 022 adult individuals,” *Gut*, vol. 70, no. 5. pp. 962–969, 2021.
- [129] T. Wan, N. Köhn, D. Kröll, and A. Berzigotti, “Applicability and Results of Liver Stiffness Measurement and Controlled Attenuation Parameter Using XL Probe for Metabolic-Associated Fatty Liver Disease in Candidates to Bariatric Surgery. A Single-Center Observational Study,” *Obesity Surgery*, vol. 31, no. 2. pp. 702–711,

2021.

- [130] Y. Deng and P. E. Scherer, “Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome,” *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1212, 2010.
- [131] T. Pischon, C. J. Girman, G. S. Hotamisligil, N. Rifai, F. B. Hu, and E. B. Rimm, “Plasma Adiponectin Levels and Risk of Myocardial Infarction in Men,” *Journal of the American Medical Association*, vol. 291, no. 14, pp. 1730–1737, 2004.
- [132] G. Targher *et al.*, “Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease,” *Clinical Endocrinology*, vol. 64, no. 6, pp. 679–683, 2006.
- [133] M. Argentou *et al.*, “Adipokine serum levels are related to liver histology in severely obese patients undergoing bariatric surgery,” *Obesity Surgery*, vol. 19, no. 9, pp. 1313–1323, 2009.
- [134] G. Targher, L. Bertolini, and L. Zenari, “Hypoadiponectinemia is closely associated with nonalcoholic hepatic steatosis in obese subjects [3],” *Diabetes Care*, vol. 27, no. 8, pp. 2085–2086, 2004.
- [135] R. Jamali, A. Arj, M. Razavizade, and M. H. Aarabi, “Prediction of nonalcoholic fatty liver disease via a novel panel of serum adipokines,” *Medicine (United States)*, vol. 95, no. 5, 2016.
- [136] L. K. Forsythe, J. M. W. Wallace, and M. B. E. Livingstone, “Obesity and inflammation: The effects of weight loss,” *Nutrition Research Reviews*, vol. 21, no. 2, pp. 117–133, 2008.
- [137] E. E. Powell, V. W. Wong, and M. Rinella, “Seminar Non-alcoholic fatty liver disease,” *Lancet*, vol. 6736, no. 20, pp. 1–13, 2021.

## 8 FIGURE E TABELLE DELLO STUDIO

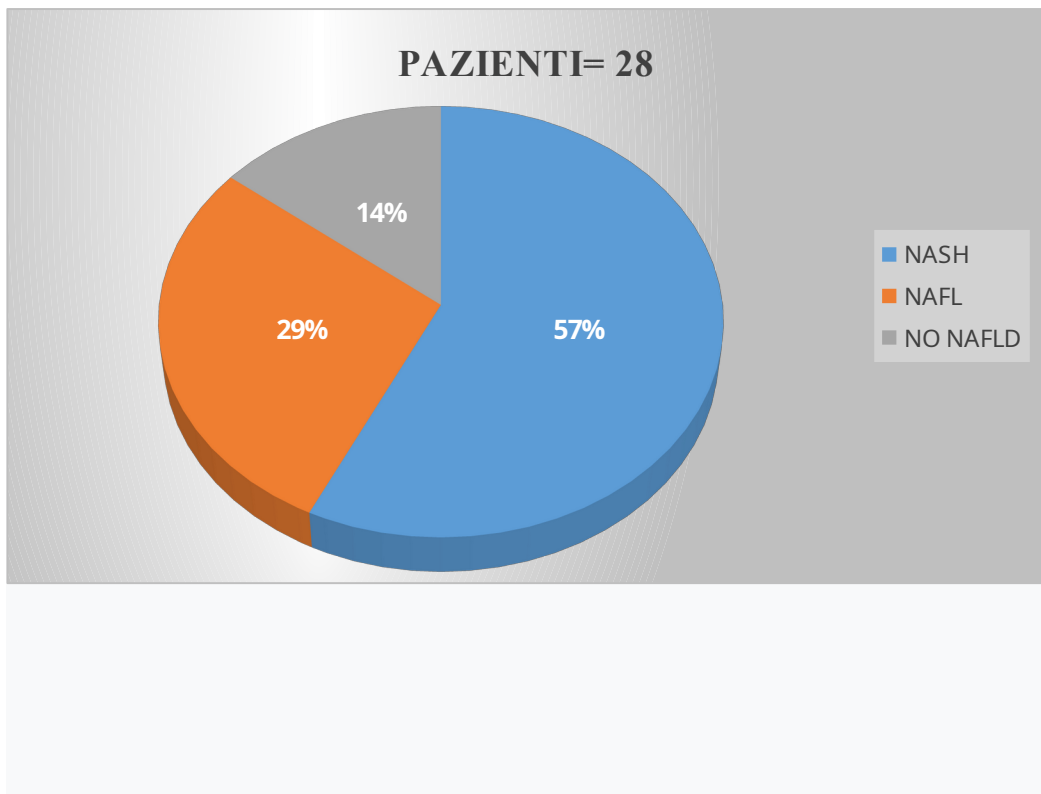
**TABELLA 1.** Caratteristiche cliniche e biochimiche di tutti i pazienti al baseline.

CASISTICA AL BASELINE (N=28)	
Età (anni)	41 (25-47)
Sesso (maschi/femmine, n)	7/21
Peso (kg)	122 (109-135)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	45 (41-47)
Circonferenza vita (cm)	123 (111-130)
Pressione sistolica (mmHg)	120 (110-130)
Pressione diastolica (mmHg)	80 ( 70-91 )
Frequenza cardiaca (bpm)	76 (64-80)
Massa grassa (kg)	58 (51-65)
AST (U/L)	20 (15-29)
ALT (U/L)	29 (18-39)
GGT (U/L)	27 (19-49)
Colesterolo totale (mg/dL)	199 (166-223)
Colesterolo HDL (mg/dL)	48 (41-56)
Trigliceridi (mg/dL)	114 (102-144)
Colesterolo LDL (mg/dL)	119 (99-145)
PCSK-9 (ng/mL)	290 (215-319)
Adiponectina (ug/mL)	5.0 (3.8-6.2)
Glicemia digiuno (mmol/L)	5.1 (5-6)
Glicemia 2h dopo OGTT (mmol/L)	7.0 (5-9)
Insulina digiuno (mU/L)	16 (11-24)
Insulina 2h dopo OGTT 120 (mU/L)	80 (42-146)
Diabete mellito tipo 2 (%)	14,3
Ipertensione arteriosa (%)	50
Dislipidemia (%)	32.1
Consumo alcolico (no/lieve-moderato, n)	17/11
HOMA-IR score	3.9 (2.5-5.8)
M clamp (mg/kg x min)	2.1 (1.6-3.5)
Tipologia di intervento chirurgico (SG/RYGB)	19/9

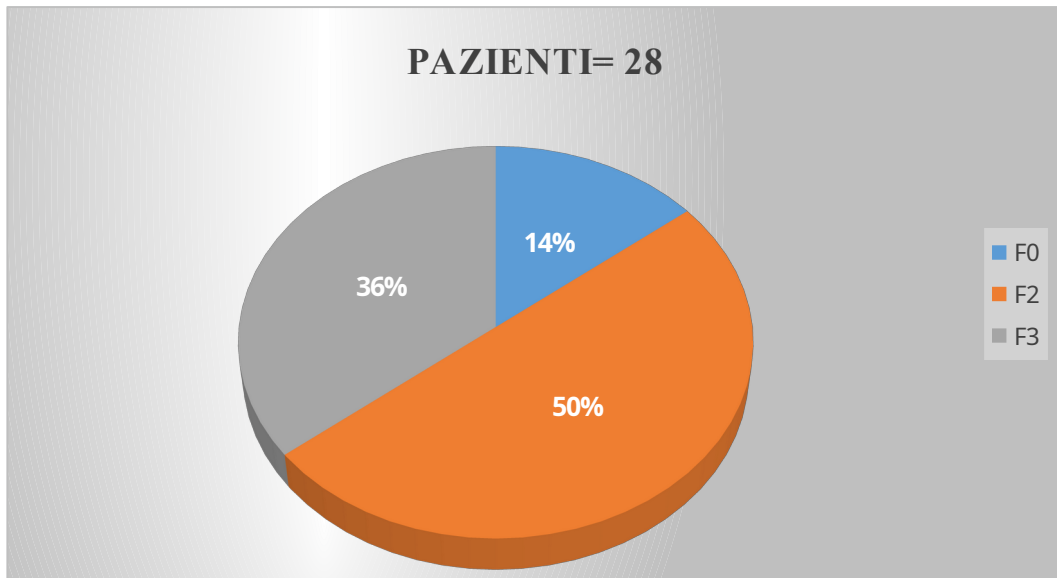
*Dimensione del campione, n=28. I dati sono espressi come mediana ± range interquartile (IQR) o frequenze. Diabete mellito era diagnosticato sulla base dell'anamnesi, glicemia a digiuno >125 mg/dl, HbA1c >6.5% e/o uso di farmaci. Ipertensione era definita come PA >140/90 mmHg e/o uso di farmaci. Dislipidemia era definta come LDL-C >130 mg/dL, trigliceridi >150 mg/dL e/o HDL-C <40 mg/dL nei maschi e <50 mg/dL nelle donne e/o uso di farmaci.*

*Abbreviazioni:* BMI= body mass index; AST= aspartato aminotransferasi; ALT= alanina aminotransferasi; GGT= gamma-glutamil transferasi; SG= sleeve gastrectomy; RYGB= Roux-en-Y gastric bypass; HOMA-IR= homeostasis model assessment-insulin resistance.

**FIGURA 6.** Prevalenza di NAFL (steatosi semplice) e NASH alla biopsia epatica nella casistica di pazienti obesi sottoposti a chirurgia bariatrica.



**FIGURA 7.** Severità della fibrosi alla biopsia epatica nella casistica di pazienti obesi sottoposti a chirurgia bariatrica.



Stadio F0 = no fibrosi    F2 = fibrosi moderata    F3 = fibrosi severa (“*bridging fibrosis*”)

**TABELLA 2.** Caratteristiche cliniche e biochimiche al baseline dei pazienti suddivisi in base alla presenza/assenza di NASH.

	No-NASH ( n=12)	NASH ( n=16)	P value
Età (anni)	40.5 (28-46)	41 (23-47)	0.732
Sesso (maschi/femmine, n)	3/9	4/12	0.999
Peso (kg)	122 (111-135)	119 (104-136)	0.732
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	44.7 (41-47)	44.8 (39-48)	0.802
Circonferenza vita (cm)	122 (106-129)	123.5 (111-135)	0.568
Pressione sistolica (mmHg)	122 (110-130)	120 (110-130)	0.945
Pressione diastolica (mmHg)	80 (72-95)	70 (70-91)	0.223
Frequenza cardiaca (bpm)	79 (65-80)	72 (64-79)	0.347
Massa grassa (kg)	59.5 (55-65)	56.9 (47-67)	0.347
AST (U/L)	17 (14-27)	21 (15-30)	0.647
ALT (U/L)	22 (17-34)	31 (19-43)	0.121
GGT (U/L)	25 (19-44)	31 (19-51)	0.631
PCR (mg/L)	1.1 (0.6-1.4)	1.3 (0.5-1.4)	0.941
Colesterolo HDL (mg/dL)	45 (41-56)	48 (41-55)	0.945
Trigliceridi (mg/dL)	115 (103-125)	111 (92-145)	0.804
Colesterolo LDL (mg/dL)	132 (117-154)	106 (91-134)	0.384

PCSK-9 (ng/mL)	302.1 (190-321)	272.7 (234-319)	0.873
Adiponectina (ug/mL)	5.0 (3.8-6.2)	5.2 (3.3-6.2)	0.802
Glicemia digiuno (mmol/L)	5.2 (4.9-5.6)	5.3 (4.7-6.5)	0.631
Glicemia 2h dopo OGTT (mmol/L)	6.3 (4.5-7.9)	7.5 (5.7-10)	0.149
Insulina digiuno (mU/L)	13.3 (11-23)	15.6 (12-25)	0.646
Insulina 2h dopo OGTT 120 (mU/L)	69 (42-160)	87 (40-145)	0.851
AUC glicemia OGTT baseline (mmol/L x h)	1370 (1256-1499)	1435 (1089-1856)	0.602
AUC insulina OGTT baseline (mU/L x h)	12398 (9409-29010)	15857 (7722-23050)	0.600
M clamp (mg/kg x min)	2.7 (1.7-3.7)	1.8 (1.2-2.8)	0.164
HOMA-IR score	3.1 (2.3-5.3)	4.4 (2.6-6.2)	0.434
Diabete tipo 2 (%)	0	25	0.113
Terapia ipoglicemizzante (%)	8.3	25	0.355
Ipertensione arteriosa (%)	33.3	62.5	0.252
ACE inibitori/sartani (%)	16.7	31.3	0.662
Calcio antagonisti (%)	8.3	25	0.355
Beta-bloccanti (%)	0	18.8	0.238
Alfa-litici (%)	0	6.3	0.999
Diuretici (%)	0	18.8	0.238
Dislipidemia (%)	25	37.5	0.687



Consumo alcolico (no/lieve-moderato, n)	8/4	9/7	0.705
Rapporto AST/ALT	0.70 (0.6-1.2)	0.60 (0.5-0.8)	0.095
FIB-4 score	0.50 (0.3-1)	0.50 (0.2-0.8)	0.572
APRI index	0.10 (0.1-0.2)	0.20 (0.1-0.3)	0.809
Staging fibrosi epatica (F0/F2/F3, n)	4/5/3	0/9/7	<b>0.043</b>
Tipologia di intervento chirurgico (SG/RYGB)	9/3	10/6	0.687

*Dimensione del campione, n=28.* I dati sono espressi come mediana  $\pm$  range interquartile (IQR) o frequenze. Diabete mellito era diagnosticato sulla base dell'anamnesi, glicemia a digiuno  $>125$  mg/dl, Hb A1c  $>6.5\%$  e/o uso di farmaci. Ipertensione era definita come PA  $>140/90$  mmHg e/o uso di terapia farmacologica. Dislipidemia era diagnosticata come LDL-C  $>130$  mg/dL, trigliceridi  $>150$  mg/dL e/o HDL-C  $<40$  mg/dL nei maschi e  $<50$  mg/dL nelle donne e/o uso di terapia farmacologica.

*Abbreviazioni:* BMI= body mass index; AST= aspartato aminotransferasi; ALT= alanina aminotransferasi; GGT= gamma-glutamyl transferasi; PCR= proteina C reattiva; SG= sleeve

**TABELLA 3.** Caratteristiche cliniche e biochimiche dei pazienti suddivisi sulla base della severità istologica della fibrosi epatica al baseline.

	Fibrosi F0-F2 (n = 18)	Fibrosi F3 (n=10)	P value
Età (anni)	40 (26-47)	42 (22-48)	0.906
Sesso (maschi/femmine, n)	5/13	2/8	0.999
Peso (kg)	129 (115-141)	107 (100-123)	<b>0.016</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	45.2 (41-49)	41.6 (39-46)	0.208
Circonferenza vita (cm)	124 (115-131)	115 (105-125)	0.175
Pressione sistolica (mmHg)	110 (109-132)	125 (117-130)	0.265
Pressione diastolica (mmHg)	80 (70-96)	80 (70-85)	0.906
Frequenza cardiaca (bpm)	74 (64-80)	76 (67-81)	0.621
Massa grassa (kg)	60.5 (57-70)	52.4 (45-59)	<b>0.031</b>
AST (U/L)	19 (15-26)	26 (12-38)	0.760
ALT (U/L)	24 (17-35)	33 (23-55)	0.109
GGT (U/L)	26 (20-45)	38 (18-84)	0.226
PCR (mg/L)	1.1 (0.7-1.4)	1.2 (0.1-1.3)	0.699
Colesterolo HDL (mg/dL)	44 (41-50)	50.5 (47-57)	0.057
Trigliceridi (mg/dL)	107 (100-124)	135 (95-157)	0.187
	125 (103-140)	115 (70-148)	0.375

Colesterolo LDL (mg/dL)			
PCSK-9 (ng/mL)	257.3 (210-315)	304.4 (244-334)	0.286
Adiponectina (ug/mL)	5.2 (4.3-6.3)	4.7 (2.8-5.6)	0.286
Glicemia digiuno (mmol/L)	5.2 (4.8-5.8)	5.5 (4.8-7.4)	0.356
Glicemia 2h dopo OGTT (mmol/L)	5.9 (4.6-7.7)	8.5 (7.3-12.9)	<b>0.010</b>
Insulina digiuno (mU/L)	14.4 (8.8-24)	16 (13-25)	0.452
Insulina 2h dopo OGTT 120 (mU/L)	79 (42-119)	109 (46-172)	0.452
AUC glicemia OGTT baseline (mmol/L x h)	1294 (1130-1433)	1655 (1393-2513)	<b>0.025</b>
AUC insulina OGTT baseline (mU/L x h)	16042 (8606-22515)	14232 (7365-22782)	0.776
M clamp (mg/kg x min)	2.5 (1.8-3.7)	1.8 (0.7-3.1)	0.110
HOMA-IR score	3.3 (1.9-5.6)	4.8 (2.8-7.9)	0.276
Diabete tipo 2 (%)	5.6	30	0.116
Terapia ipoglicemizzante (%)	5.6	40	<b>0.041</b>
Ipertensione arteriosa (%)	33.3	80	<b>0.046</b>
ACE inibitori/sartani (%)	16.7	40	0.207
Calcio antagonisti (%)	16.7	20	0.999
Beta-bloccanti (%)	11.1	10	0.999
Alfa-litici (%)	5.6	0	0.999

Diuretici (%)	11.1	10	0.999
Dislipidemia (%)	22.2	50	0.210
Consumo alcolico (no/lieve-moderato, n)	11/7	6/4	0.999
Rapporto AST/ALT	0.70 (0.6-1.2)	0.60 (0.5-0.8)	0.152
FIB-4 score	0.50 (0.3-0.8)	0.60 (0.2-1)	0.999
APRI index	0.10 (0.1-0.2)	0.30 (0.1-0.3)	0.677
Tipologia di intervento chirurgico (SG/RYGB)	12/6	7/3	0.999

*Dimensione del campione*, n=28. I dati sono espressi come mediana  $\pm$  range interquartile (IQR) o frequenze. Diabete mellito era diagnosticato sulla base dell'anamnesi, glicemia a digiuno >125 mg/dl, Hb A1c >6.5% e/o uso di farmaci. Ipertensione era definita come PA >140/90 mmHg e/o uso di terapia farmacologica. Dislipidemia era diagnosticata come LDL-C >130 mg/dL, trigliceridi >150 mg/dL e/o HDL-C <40 mg/dL nei maschi e <50 mg/dL nelle donne e/o uso di terapia farmacologica.

*Abbreviazioni*: BMI= body mass index; AST= aspartato aminotransferasi; ALT= alanina aminotransferasi; GGT= gamma-glutamyl transferasi; SG= sleeve gastrectomy; PCR= proteina C reattiva; RYGB= Roux-en-Y gastric bypass; FIB-4= fibrosis-4; APRI= AST to Platelet Ratio Index.

**TABELLA 4a.** Valori di peso corporeo, transaminasi plasmatiche, principali scores non invasivi di fibrosi epatica avanzata ed adiponectina al baseline (T0) e dopo 6 (T6) e 12 (T12) mesi dall'intervento chirurgico nel sottogruppo di 12 pazienti senza NASH (No-NASH) al baseline.

	No-NASH T0	No-NASH T6	No-NASH T12	P-value
Peso (kg)	119 (111-130)	84 (72-99)	78 (71-92)	<b>0.002</b>
AST (U/L)	23 (14-53)	21 (13-29)	13 (10-16)	<b>0.039</b>
ALT (U/L)	23 (8-45)	22 (10-59)	12 (8-18)	0.282
Rapporto AST/ALT	0.91 (0.6-5.9)	1 (0.5-1.4)	1.1 (0.8-1.4)	0.368
Fib-4 score	ND	ND	ND	-
APRI index	ND	ND	ND	-
Adiponectina	5.2 (3.7-6.5)	6.6 (5-8.2)	8 (5.2-10)	<b>0.029</b>

N=12

I dati sono espressi come mediana  $\pm$  range interquartile (IQR).

*Abbreviazioni:* AST = aspartato aminotransferasi; ALT = alanina aminotransferasi; FIB-4 = fibrosis -4; APRI = AST to Platelet Ratio Index; ND = non determinato.

**TABELLA 4b.** Valori di peso corporeo, transaminasi plasmatiche, principali scores non invasivi di fibrosi epatica avanzata ed adiponectina al baseline (T0) e dopo 6 (T6) e 12 (T12) mesi dall'intervento chirurgico nel sottogruppo di 16 pazienti con NASH al baseline.

	<b>NASH T0</b>	<b>NASH T6</b>	<b>NASH T12</b>	<b>P-value</b>
Peso (kg)	119 (102-138)	92 (83-106)	81 (71-89)	<b>0.001</b>
AST (U/L)	22 (14-31)	21 (15-26)	23 (13-31)	0.891
ALT (U/L)	31 (16-52)	21 (15-40)	23 (13-35)	0.581
Rapporto AST/ALT	0.6 (0.5-0.8)	0.9 (0.6-1)	0.9 (0.6-1.2)	0.607
Fib-4 score	0.8 (0.4-1)	0.7 (0.5-1.1)	0.7 (0.5-1.2)	0.115
APRI index	0.3 (0.1-0.3)	0.2 (0.1-0.3)	0.2 (0.1-0.3)	0.607
Adiponectina	5.2 (3.9-6.2)	7.3 (6-10.8)	8.7 (6.9-14.3)	<b>0.001</b>

N=16

I dati sono espressi come mediana  $\pm$  range interquartile (IQR).

*Abbreviazioni:* AST = aspartato aminotransferasi; ALT = alanina aminotransferasi; FIB-4 = fibrosis-4; APRI = AST to Platelet Ratio Index; ND = non determinato.

**TABELLA 5a.** Valori di peso corporeo, transaminasi plasmatiche, principali scores non invasivi di fibrosi epatica avanzata ed adiponectina al baseline (T0) e dopo 6 (T6) e 12 (T12) mesi dall'intervento chirurgico nel sottogruppo dei 18 pazienti con fibrosi di stadio F0-2 al baseline.

	<b>Fibrosi F0-F2 T0</b>	<b>Fibrosi F0-F2 T6</b>	<b>Fibrosi F0-F2 T12</b>	<b>P-value</b>
Peso (kg)	122 (115-136)	94 (83-102)	87 (72-94)	<b>0.001</b>
AST (U/L)	17 (14-30)	18 (12-25)	19 (12-28)	0.949
ALT (U/L)	23 (9-38)	19 (11-44)	19 (10-41)	0.957
Rapporto AST/ALT	0.6 (0.5-3)	0.9 (0.6-1.2)	1 (0.7-1.2)	0.607
Fib-4 score	0.4 (0.2-0.7)	0.4 (0.4-0.6)	0.5 (0.3-0.8)	0.105
APRI index	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.3)	0.472
Adiponectina	5.5 (4.3-6.3)	7 (5-10.5)	8 (5.5-11)	<b>0.003</b>

N=18

I dati sono espressi come mediana  $\pm$  range interquartile (IQR).

*Abbreviazioni:* AST = aspartato aminotransferasi; ALT = alanina aminotransferasi; FIB-4 = Fibrosis-4; APRI = AST to Platelet Ratio Index.

**TABELLA 5b.** Valori di peso corporeo, transaminasi plasmatiche, principali scores non invasivi di fibrosi epatica avanzata ed adiponectina al baseline (T0) e dopo 6 (T6) e 12 (T12) mesi dall'intervento chirurgico nel sottogruppo dei 10 pazienti con fibrosi di stadio F3 (brinding fibrosis) al baseline.

	<b>Fibrosi F3 T0</b>	<b>Fibrosi F3 T6</b>	<b>Fibrosi F3 T12</b>	<b>P-value</b>
Peso (kg)	106 (96-124)	82 (69-89)	72 (70-81)	<b>0.004</b>
AST (U/L)	26 (14-50)	25 (18-27)	14 (11-27)	0.309
ALT (U/L)	31 (17-52)	23 (18-40)	16 (11-31)	0.104
Rapporto AST/ALT	0.6 (0.6-0.9)	0.9 (0.6-1.1)	0.9 (0.7-1.4)	0.607
Fib-4 score	0.89 (0.88-1,24)	0,97 (0.77- 1,52)	1.02 (0.54-1,82)	0.717
APRI index	0.26 (0.25-0,39)	0.28 (0.14-0,32)	0.29 (0.09-0,45)	0.717
Adiponectina	4.7 (2.9-5.5)	6.5 (5.8-13)	9.6 (5.4-15)	<b>0.008</b>

N=10

I dati sono espressi come mediana  $\pm$  range interquartile (IQR).

*Abbreviazioni:* AST = aspartato aminotransferasi; ALT = alanina aminotransferasi; FIB-4 = fibrosis-4; APRI = AST to Platelet Ratio Index.