



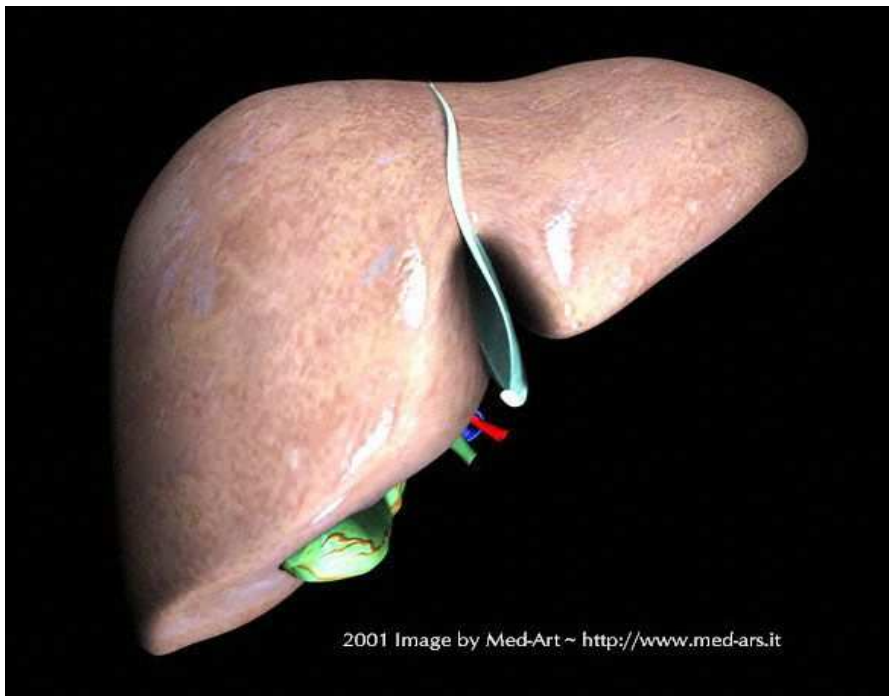
**UNIVERSITÀ DI PISA**

**Facoltà di Medicina e Chirurgia**

---

**Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica**

**DIAGNOSTICA DELLE MALATTIE DEL FEGATO**



Candidata

**Eva Trapani**

Relatore

**Prof. Aldo Paolicchi**

---

**Anno Accademico 2010/2011**

# **INTRODUZIONE**

## **Struttura e funzioni del fegato**

Il fegato è il più grande organo solido del corpo umano. Il suo peso è di circa 1-1,5 Kg e le sue dimensioni sono mantenute costanti rispetto al peso corporeo, aumentando o diminuendo in base a esso. È composto da un lobo destro, più grande, e uno sinistro, più piccolo, ed è collocato sotto il diaframma contro la gabbia toracica nel quadrante superiore destro dell'addome. È l'unico organo in grado di rigenerarsi completamente, fino a tornare esattamente al peso originale dopo essere stato danneggiato e parzialmente asportato.

Ha un'importanza fondamentale per l'organismo in quanto svolge numerose funzioni cruciali:

- sovrintende all'approvvigionamento di energia dell'organismo attraverso i processi biochimici di glicogenesi, glicogenolisi, gluconeogenesi e chetogenesi;
- produce la maggior parte delle proteine circolanti (albumina, proteine di trasporto, fattori di coagulazione, ormoni e fattori di crescita);
- contribuisce al processo della digestione attraverso la produzione della bile;
- ha un ruolo importante nel metabolismo dei lipidi e nell'omeostasi dello ione idrogeno;
- ha un ruolo chiave nel metabolismo dell'ammonio e di xenobiotici, come farmaci, etanolo e altre sostanze tossiche, diminuendo la loro tossicità e convertendoli in sostanze che possono poi essere eliminate con le urine o la bile.

Le principali funzioni del fegato sono svolte dalle cellule parenchimali (epatociti), che costituiscono l'80% delle cellule del fegato; le altre cellule presenti sono le cellule di Kupffer (che fanno parte del sistema reticoloendoteliale), le cellule stellate (che immagazzinano grassi), le cellule endoteliali e dei vasi sanguigni e le cellule dei dotti biliari.

Il fegato è un organo molto vascolarizzato: riceve ogni giorno circa 2000 L di sangue dall'arteria epatica e dalla vena porta. L'80% di questo sangue deriva dalla vena porta, che lo raccoglie dal circolo splanchnico e dalla milza, e il 20% dall'arteria epatica, che lo deriva direttamente dall'aorta. Arteria epatica e vena porta si ramificano ripetutamente all'interno

dell'organo a formare una rete di arteriole e venule che decorrono in canali, detti tratti portal, e che trasportano il sangue direttamente agli epatociti.

Gli epatociti sono disposti in strati monocellulari sostenuti da una trama di materiale collagene, noto come reticolina; i due lati dello strato sono irrorati da sangue, consentendo un rapido scambio di sostanze tra cellule epatiche e sangue. Il sangue viene poi raccolto dalle venule epatiche terminali della vena epatica e convogliato nella vena cava.

Il fegato ha una struttura ghiandolare (ad acino) che può essere visualizzato o come gruppi di tratti portal, detti triadi, che circondano una venula epatica terminale (vena centrale) o come gruppi di vene centrali che circondano un tratto portale (vedi figura 1). Gli acini, denominati comunemente lobuli epatici, rappresentano delle unità di microcircolo che svolgono funzioni analoghe in tutto il fegato. Nel lobulo si riconoscono due zone principali: una periportale (afferente prossimale), perfusa di sangue ricco di ossigeno e di substrati metabolici, e una perivenulare (efferente o distale), perfusa di sangue relativamente povero di ossigeno e ricco di cataboliti. La zona periportale è la sede del metabolismo ossidativo energetico, della gluconeogenesi, della sintesi del colesterolo e della formazione della bile, mentre nella zona perivenulare si svolgono il metabolismo xenobiotico, la glicolisi, la litogenesi e la chetogenesi.

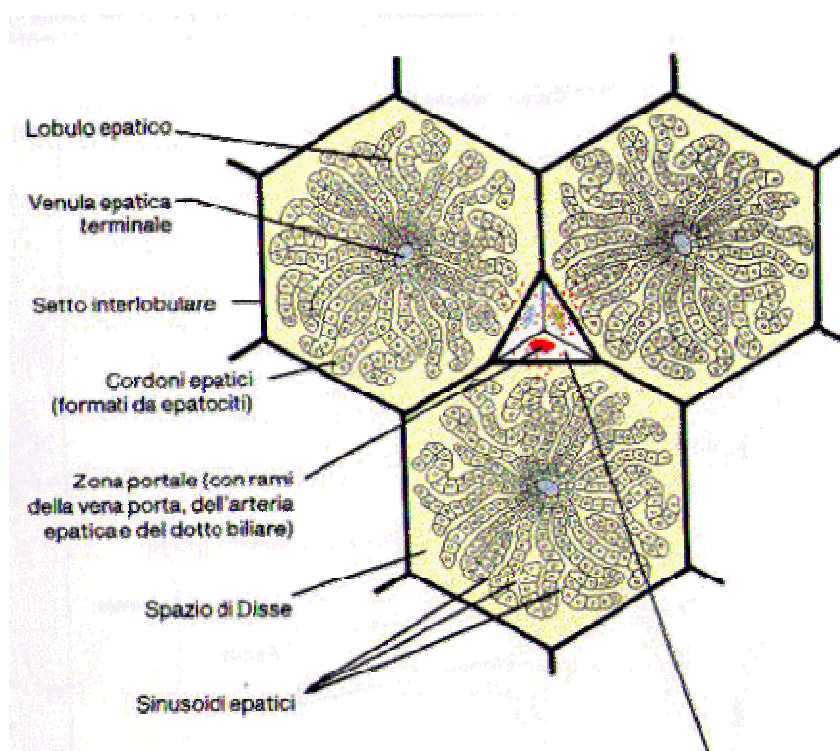


Figura 1. Struttura ghiandolare del fegato

## **Malattie epatiche**

In base alle loro diverse cause (infiammatoria, vascolare, metabolica, neoplastica, ecc.) le malattie epatiche possono essere distinte in:

- Iperbilirubinemie
- Epatiti virali
- Malattie epatiche immuno-mediate o autoimmuni
- Malattie epatiche genetiche
- Epatopatia alcolica
- Steatosi non alcolica
- Steatosi acuta della gravidanza
- Interessamento epatico secondario a malattie sistemiche
- Sindromi colestatiche
- Malattie da farmaci
- Malattie da danno vascolare
- Lesioni occupanti spazio.

Anche se esistono diverse cause di malattia epatica, dal punto di vista clinico queste malattie si presentano con pochi quadri clinici ben distinti, classificati in forme di tipo epatocellulare, colestatico o misto. Nelle malattie epatocellulari predominano gli aspetti di danno epatico, di infiammazione e di necrosi. Nelle malattie colestatiche prevalgono, invece, gli aspetti di riduzione o blocco del flusso biliare. Nel tipo misto sono presenti gli aspetti di danno sia epatico che colestatico.

La colestasi rappresenta la conseguenza dell'arresto della produzione e/o dell'escrezione della bile per problemi nella secrezione di bile dall'epatocita (colestasi intraepatica), causata da un danno parenchimale, o nel flusso della bile all'esterno del fegato (colestasi extraepatica), causata da ostruzione dei dotti biliari. In entrambi i casi si verifica un accumulo di bilirubina (soprattutto coniugata) nel sangue e in altri tessuti che porta al manifestarsi dell'ittero. L'ittero epatico è solitamente accompagnato da urine di colore scuro (dovuto alla presenza della bilirubina escreta dal rene) e da feci di colore chiaro (dovuto alla mancata escrezione dei pigmenti biliari nel duodeno).

Il danno epatico acuto, spesso denominato “epatite”, insorge tipicamente all’improvviso e in un periodo di tempo piuttosto breve. Al di là delle forme di eziologia virale, si tratta di un evento con sostanziale carattere di aspecificità, caratterizzato da fenomeni regressivi fino alla necrosi, che interessano gli epatociti, e alla base dei quali sta una reazione flogistica di tipo acuto.

Il danno epatico acuto ha tre possibili esiti:

- la completa risoluzione;
- la progressione a epatopatia cronica di varia severità;
- l’insufficienza epatica acuta.

Quest’ultima implica lo sviluppo di una severa disfunzione epatica non oltre i sei mesi dall’esordio delle prime manifestazioni acute. Quando l’insufficienza epatica si sviluppa molto rapidamente (entro 8 settimane) si ha la forma “fulminante”, condizione relativamente rara ma spesso fatale.

Le infezioni epatiche più frequenti sono le epatiti virali causate dai virus A, B, C, D ed E, anche se è stata ipotizzata l’esistenza di un virus dell’epatite F ed è stato identificato un virus dell’epatite G. Le infezioni epatiche da trematodi e cestodi sono molto frequenti nei paesi tropicali; il crescente flusso migratorio da quei paesi lascia, tuttavia, ipotizzare un aumento nella frequenza di queste patologie anche alle nostre latitudini. Queste condizioni rimangono spesso subcliniche per molti anni, con la possibilità di svilupparsi in aree non endemiche all’interno di comunità di immigrati. Numerosi altri virus, oltre a quelli classici, sono stati associati all’epatite, compresi gli herpes virus, il citomegalovirus, gli enterovirus, i coronavirus, i reovirus (nei neonati), gli adenovirus, il parvovirus B6 (importante in pediatria), il virus della varicella e il virus di Epstein-Barr. Anche sifilide, leptospirosi, toxoplasmosi e altri agenti infettivi meno noti possono causare un danno epatico; altre patologie come linfoma, sindrome di Budd-Chiari e malattia veno-occlusiva possono presentarsi con un quadro di danno epatico acuto. Si possono anche verificare delle superinfezioni con altri virus dell’epatite: per es. pazienti con epatite cronica di tipo C o epatite alcolica possono infettarsi con virus A o B e sviluppare un’epatite acuta.

I virus dell’epatite sono diversi per morfologia, modalità di trasmissione e propensione alla cronicizzazione. I virus A ed E sono trasmessi per via oro-fecale e causano un’epatite acuta che molto di rado ha sequele a lungo termine, mentre i virus B, C, e D sono trasmessi per via parenterale e sono spesso associati allo sviluppo di epatite cronica dopo un’iniziale fase acuta.

La clinica della singola infezione risente del tipo di virus coinvolto, della quantità di virus inoculato e dell’età del soggetto infettato ma, dal punto di vista della sintomatologia generale, il

quadro è sostanzialmente sovrapponibile: dopo un periodo di incubazione, la fase acuta, che può tuttavia anche decorrere perfettamente asintomatica, inizia con malessere generale, nausea, perdita di appetito e sintomi similinfluenzali (febbre, mialgie, artralgie), seguiti dalla comparsa di urine scure, feci chiare e ittero. Occasionalmente, il decorso può essere particolarmente grave e portare all'insufficienza epatica e al coma con elevata mortalità; tuttavia, di norma, la fase acuta si risolve benignamente in poche settimane o mesi. C'è oggi evidenza che i virus coinvolti non siano direttamente citopatici e che il danno epatocellulare sia probabilmente causato dalle reazioni immunitarie di difesa dell'ospite rivolte contro le cellule infettate dal virus.

Nel danno epatico cronico la sintomatologia è minima ma si accompagna a elevato rischio a lungo termine di grave mortalità e morbilità. Dal punto di vista anatomico-patologico è definito come necrosi e infiammazione epatica persistenti, spesso accompagnate da fibrosi. Può evolvere in cirrosi (15-20% nel caso di infezione cronica da HCV) e predispone al carcinoma epatocellulare. La più temuta conseguenza dell'epatite cronica è l'evoluzione in cirrosi, la fase terminale dei processi cicatriziali e rigenerativi del fegato in risposta al danno cronico. I processi cicatriziali producono un aumento della resistenza all'interno del circolo portale che provoca ascite, varici esofagee e aumentata suscettibilità alle infezioni arrivando fino all'insufficienza epatica (la più frequente causa di trapianto di fegato).

L'ascite è un accumulo eccessivo di fluido extracellulare nella cavità addominale, complicanza frequente della cirrosi. Le cause principali sono la ritenzione di sodio (da iperaldosteronismo secondario) e l'ipoalbuminemia per difetto di sintesi epatica. Le urine diventano virtualmente prive di sodio e finché l'introito di sodio supera l'escrezione l'ascite continua a peggiorare.

L'ipertensione portale, cioè l'aumento della pressione sanguigna nella vena porta, è dovuta a un aumento della resistenza al flusso sanguigno creato dall'ampio deposito di tessuto fibroso che si verifica nel fegato cirrotico. Il sangue è, quindi, deviato verso il circolo sistemico a minore pressione e soprattutto nella vena splenica (ipersplenismo) e nelle vene della parte superiore dello stomaco e della parte inferiore dell'esofago ("shunt" porto sistemico), che hanno una parete sottile e diventano varicose. Gli effetti clinici più importanti dell'ipertensione portale sono:

- emorragie molto gravi causate da rottura di varici esofagee e gastriche;
- encefalopatia epatica causata dalla diminuzione dell'azione detossificante del fegato;
- ipersplenismo, che causa un aumento del sequestro di leucociti e piastrine nella milza con neutropenia, trombocitopenia e minore resistenza alle infezioni.

In generale, i sintomi di una malattia epatica includono ittero, astenia, nausea, inappetenza, prurito, splenomegalia, urine ipercromiche, feci ipocoliche, dolore ai quadranti addominali superiori, distensione addominale, emorragia intestinale, epatomegalia, eritema palmare ed escoriazioni. I segni di malattia in fase avanzata comprendono, invece, perdita della massa muscolare, ascite, edema, dilatazione delle vene della superficie addominale, alito epatico, tremore a scatti, confusione mentale, fino ad arrivare al coma.

## **I Parte. DIAGNOSTICA DI LABORATORIO**

Data la numerosità delle funzioni epatiche e la complessità dei danni anatomo-funzionali presenti nelle diverse condizioni morbose, è evidente che non può esistere un singolo esame di laboratorio che sia da solo in grado di mettere in evidenza tutte le possibili alterazioni del fegato. Frequentemente, nella pratica quotidiana, sono utilizzati raggruppamenti di test configurati in modo da valutare i diversi aspetti della situazione morbosa a carico del fegato, quali la presenza di un'epatopatia, la sua natura e gravità, il tipo di danno, la compromissione della funzionalità dell'organo, ecc.

È possibile distinguere tre livelli di test:

1. test di I livello di funzionalità epatica;
2. test di II livello di funzionalità specifica;
3. test diagnostici di patologia epatica.

I test di I livello comprendono a sua volta:

- esami finalizzati alla valutazione della capacità di sintesi e di metabolismo del fegato;
- test di escrezione;
- test di citolisi.

Questo gruppo di test permette di distinguere correttamente circa l'80% dei casi di epatopatia.

In generale, questi esami comprendono la valutazione di:

- attività enzimatiche sieriche di possibile origine epatocitaria (AST, ALT, ALP, GGT);
- bilirubina nel sangue e nelle urine;
- proteine plasmatiche (albumina e/o globuline);
- fattori della coagulazione (mediante la determinazione del PT).

Quando più di uno di questi esami è alterato è molto probabile che esista una malattia epatica.

I risultati di questi esami di solito indicano se la malattia è di tipo parenchimale o colestatica, acuta o cronica, e se è già presente cirrosi o insufficienza epatica.

I test di II livello di funzionalità specifica sono test di valutazione quantitativa di specifici aspetti di funzionalità epatica. Sono test complessi non ancor in uso nella pratica clinica, utilizzati



per ricerche, in particolare per il trapianto di fegato, o per monitorare l'efficacia di nuovi farmaci in corso di epatopatia. Essi sono costituiti da:

- clearance dell'antipirina;
- capacità di eliminazione del galattosio;
- clearance del verde di indocianina;
- il test del respiro ("breath test") con aminopirina;
- il test di formazione del monoetilglicinaexilidide (MEGX).

Infine, i test diagnostici di patologia epatica comprendono tutti quegli esami finalizzati alla diagnosi di specifiche patologie (per es. i test virologici per la diagnosi di epatite virale).

## **1. TEST DI PRIMO LIVELLO DI FUNZIONALITA' EPATICA**

### **1.a. Valutazione della capacità di sintesi e di metabolismo del fegato**

#### ***Proteine plasmatiche***

Tutte le proteine presenti nel plasma sono sintetizzate dal fegato, con l'eccezione delle immunoglobuline (prodotte dalle plasmacellule), di alcuni componenti del complemento (prodotti dai macrofagi) e di alcune lipoproteine (prodotte dalle cellule intestinali). Alcune hanno funzione nutritiva (albumina), altre intervengono nei processi di coagulazione e fibrinolisi, nel trasporto di altre molecole (come bilirubina, ormoni, lipidi, calcio), nel mantenimento della pressione colloidale, ecc.

La concentrazione plasmatica delle proteine può risultare alterata sia per condizioni che modificano il metabolismo proteico che per alterazioni della volemia. Tuttavia, il valore assoluto delle proteine totali plasmatiche non riflette le variazioni quantitative delle singole unità (per es. in caso di cirrosi si osserva una diminuzione di albumina e un aumento di IgG per cui le proteine totali possono risultare normali), pertanto risulta necessario il profilo elettroforetico o la determinazione delle proteine specifiche.

L'aumento delle proteine totali, evento poco frequente, può avvenire per disidratazione, emocoagulazione, stasi venosa durante il prelievo (fenomeni che determinano un aumento

proporzionale di tutte le frazioni) o per aumento delle  $\gamma$ -globuline (in alcune situazioni di cirrosi epatica e malattie autoimmuni), oppure in presenza di proteine abnormi (gammopatie policlonali o monoclonali).

La diminuzione delle proteine totali, fenomeno più frequente, può avvenire, invece, per iperidratazione (con riduzione proporzionale di tutte le frazioni), per diminuita sintesi in seguito a insufficiente apporto alimentare (per es. per malassorbimento in corso di epatopatie croniche), per perdita proteica dal rene (sindrome nefrosica) o dall'intestino, per un eccessivo catabolismo proteico endogeno per emorragie, neoplasie, ustioni gravi, ecc.

La più abbondante tra le proteine plasmatiche è l'albumina: gli epatociti ne sintetizzano circa 12 g al giorno. Il suo pool corporeo totale è di circa 300 g, 60% extravascolare e 40% intravascolare. La velocità di sintesi dell'albumina dipende da numerosi fattori, tra cui il rifornimento epatico di amminoacidi, la pressione oncotica plasmatica, le concentrazioni di citochine inibitorie e il numero di epatociti funzionanti. L'emivita dell'albumina plasmatica è normalmente di circa 20 giorni. Essa agisce come proteina vettore di numerosi ormoni, anioni, farmaci e acidi grassi.

L'albuminemia può essere determinata con metodi che sfruttano il legame della proteina con coloranti ma, a causa dell'aspecificità di tali metodi, spesso viene stimata in maniera indiretta mediante lo studio del quadro proteico plasmatico per via elettroforetica. Tale metodo di valutazione non è tuttavia raccomandabile, data la significativa sovrastima dell'albuminemia dovuta all'avidità della proteina per il colorante utilizzato. Per la determinazione dell'albumina nel plasma sono anche disponibili degli immunodosaggi, che impiegano anticorpi specifici per la proteina ma, sebbene siano i metodi più specifici attualmente disponibili, il loro utilizzo non è molto diffuso, anche per il costo abbastanza elevato.

La concentrazione di albumina nel plasma è considerata un indice dell'attività sintetica del fegato.

L'iperalbuminemia è una condizione rara che in genere si instaura a causa di disidratazione. L'ipoalbuminemia è frequente nelle malattie croniche del fegato (come la cirrosi) e di solito riflette un danno epatico grave. Tuttavia, l'ipoalbuminemia non è una condizione specifica di malattia epatica e si può instaurare anche in seguito a perdita proteica (sindrome nefrosica, ustioni, dermatiti, enteropatia proteino-disperdente), aumentato turnover (stati catabolici, ipertiroidismo, traumi, Sindrome di Cushing, glicocorticoidi), diminuito introito proteico (malnutrizione, diete, vomito, diarrea, malassorbimento, pancreatiti, coliti, enteriti), in alcune condizioni fisiologiche (gravidanza, lattazione) e in seguito a infiammazione acuta e cronica con necrosi tissutale.

Le globuline sieriche costituiscono un cospicuo gruppo di proteine, formate dalle  $\gamma$ -globuline (immunoglobuline) prodotte dai linfociti B, e dalle  $\alpha$ - e  $\beta$ - globuline prodotte soprattutto dagli epatociti. Le  $\gamma$ -globuline aumentano nelle malattie epatiche croniche, come l'epatite cronica e la cirrosi. L'aumento della concentrazione di alcuni isotipi di  $\gamma$ -globuline è spesso utile nel riconoscimento di alcune malattie croniche del fegato. Un aumento di IgG policlonali, per esempio, è frequente nelle epatiti autoimmuni, un aumento delle IgM è frequente nella cirrosi biliare primitiva, mentre un aumento delle IgA si osserva nella malattia epatica da alcol. Le ipergammaglobulinemie vengono studiate tramite test immunologici (es. anticorpi anti-nucleo).

Anche variazioni nelle altre frazioni delle globuline possono essere caratteristiche di patologie epatiche. Per esempio, l'alfa1-antitripsina, appartenente alle  $\alpha$ -globuline con attività antiproteasica, risulta ridotta nelle cirrosi a eziologia ignota o nell'ittero colestatico giovanile.

### ***Pseudocolinesterasi o Colinesterasi (PCHE o CHE)***

È un parametro di sintesi non molto specifico. Si tratta di un enzima di secrezione presente nel plasma, usato come indice di ridotta sintesi proteica del parenchima epatico. Nelle epatiti croniche e nelle cirrosi i livelli di PCHE diminuiscono proporzionalmente al danno. Esistono due forme chimiche circolanti: una normale e una atipica. Soggetti omozigoti per la forma atipica hanno ridotti livelli circolanti di enzima non in grado di idrolizzare alcuni miorilassanti (es. succinilcolina) che possono essere usati in anestesia (oggi poco utilizzati).

Si ha inoltre una diminuzione di PCHE in caso di avvelenamento da insetticidi, ipoalbuminemia da malnutrizione o cirrosi, infezioni acute e in caso di infarto miocardico.

### ***Fattori della coagulazione***

Il fegato svolge un ruolo essenziale nell'emostasi, in quanto interviene nella sintesi della maggior parte dei fattori della coagulazione e dei loro inibitori. Nelle epatopatie, le alterazioni emostatiche sono frequenti e i pazienti con processi coagulativi alterati presentano frequentemente emorragie spontanee e sanguinano più a lungo dopo traumi o interventi chirurgici.

È utile pertanto determinare il cosiddetto tempo di protrombina (PT) che rappresenta il tempo richiesto per la formazione del coagulo, dopo aggiunta di fattore tissutale e fosfolipidi, in presenza di tromboplastina, calcio, fibrinogeno e i fattori V, VII, X, alla temperatura di 37°C (metodo di Quick).

L'attività di protrombina è un indicatore di alterazione delle vie biosintetiche ed è una delle indagini più sensibili per misurare la capacità funzionale residua del fegato nelle epatopatie (sia in forme acute che croniche). Il metodo di Quick valuta il meccanismo estrinseco della coagulazione. Il valore teorico è compreso tra 70 e 100% e può essere espresso anche in secondi (12-14 sec).

Il PT è condizionato dalla variazione di attività dei fattori X, VII, V, II (protrombina) e I (fibrinogeno) della coagulazione. Tutti questi fattori sono sintetizzati dal fegato e tre di questi (II, VII, X) sono attivati da enzimi vitamina K-dipendenti con l'aggiunta di un secondo gruppo gruppo  $\gamma$ -carbossilico sui residui di acido glutammico. La warfarina, un antagonista della vitamina K, agisce come anticoagulante mediante l'inibizione della  $\gamma$ -carbossilazione, rendendo i fattori incapaci di legare il calcio, diminuendo così la loro attività. I soggetti in terapia con questo anticoagulante sintetizzano i precursori dei fattori della coagulazione che sono però inattivi.

Anomalie della via intrinseca ed estrinseca si manifestano con un allungamento del PT.

Se la concentrazione di fibrinogeno è nei limiti fisiologici, un PT allungato suggerisce un deficit di uno dei fattori della coagulazione sintetizzati dal fegato o di vitamina K. Tuttavia, il PT è relativamente poco sensibile alla carenza dei singoli fattori della coagulazione; infatti, non aumenta significativamente fino a quando la loro concentrazione non cada al di sotto del 10% del normale. La vitamina K è liposolubile e può essere assorbita solo in presenza di sali biliari; la colestasi induce, di conseguenza, una rapida diminuzione della concentrazione plasmatica di vitamina K.

Nella determinazione del PT, il tempo richiesto perché un campione coaguli è inversamente proporzionale alla quantità di fattore tissutale presente nei reagenti utilizzati. Al fine di minimizzare la variabilità dei risultati di PT ottenuta con reagenti contenenti differenti quantità di fattore tissutale, è stato assegnato a ciascuno di essi un "Indice Internazionale di Sensibilità" (ISI), ottenuto mediante la comparazione con una procedura di riferimento. Minore è la quantità di fattore tissutale presente nel reagente, minore è il valore di ISI e più lungo sarà il PT. Per tener conto dei differenti ISI dei reagenti viene utilizzato il "Rapporto Normalizzato Internazionale" (INR), calcolato con la seguente formula:

$$\text{INR} = (\text{PT paziente} / \text{PT medio controllo})^{\text{ISI}}$$

L'uso di reagenti con ISI basso, allungando il PT, migliora la riproducibilità della misura ed è quindi consigliato per il monitoraggio della terapia anticoagulante orale (TAO). L'effetto dell'impiego dell'ISI e dell'INR è meno rilevante nella valutazione del paziente epatopatico. In quest'ultimo, l'impiego dell'ISI e il calcolo dell'INR non riflettono accuratamente l'inibizione coagulativa che si verifica in caso di diminuita funzionalità epatica. In particolare, utilizzando reagenti a basso ISI si ha solo un lieve aumento del PT, con una conseguente sottostima del grado di

alterazione della cascata coagulativa nella malattia epatica. Nei pazienti epatopatici i risultati del PT devono quindi essere espressi in secondi e non in INR.

Marcati aumento del PT (> 5 sec sopra il controllo), non corretti da trattamento con vitamina K, sono un segno negativo sia nelle forme acute che croniche.

Per PT allungato in corso di epatopatia si possono postulare due situazioni:

- presenza di danno epatico esteso con ridotta sintesi dei fattori della coagulazione;
- carenza di vitamina K per ridotto assorbimento dei lipidi secondario a ittero ostruttivo o trattamento prolungato con antibiotici.

Questa seconda evenienza può essere corretta farmacologicamente (25 mg di vitamina K i.m.): la normalizzazione del PT entro 18 h depone per ittero ostruttivo, mentre la mancata risposta per la presenza di una grave epatopatia parenchimale.

### *Ammoniemia*

L'ammoniaca viene prodotta nell'organismo durante il normale metabolismo proteico e dai batteri intestinali, soprattutto nel colon. Il fegato ha un ruolo importante nella trasformazione dell'ammoniaca in azoto, che viene poi eliminato con le urine. Anche la muscolatura striata ha un certo ruolo nell'eliminazione dell'ammoniaca, combinandola con acido glutammico per formare glutamina. I pazienti con grave malattia epatica hanno tipicamente una ridotta massa muscolare e questo probabilmente contribuisce all'iperammoniemia.

L'urea (o azoto ureico) nel sangue è generalmente indice di funzionalità renale (nella valutazione dei valori aumentati), ma diminuisce in seguito a una grave insufficienza epatica o in soggetti con alimentazione povera di proteine. Visto che si può avere una concentrazione ematica di urea normale anche con alterazione dell'80-90% del parenchima epatico, non è comunque considerata un dato molto utile in diagnostica epatologica. È semplicemente un parametro di alterato metabolismo proteico, che misura un composto direttamente correlato alla patologia e alla sua evoluzione.

L'ammoniemia è, invece, un dato utile in caso di sospetta encefalopatia epatica (sindrome caratterizzata da alterazioni neurologiche conseguenti a grave insufficienza della funzionalità epatica e/o cortocircuiti venosi fra vena porta e circolo sistemico). Il danno cerebrale sarebbe conseguente all'accumulo di sostanze tossiche (come l'ammoniaca) assorbite dall'intestino e non metabolizzate adeguatamente dal fegato. I fattori che possono determinare un aumento

dell'ammoniemia sono: diminuita sintesi da parte del fegato, per alterata funzionalità metabolica o per cortocircuiti venosi, oppure aumentata produzione ad opera dei batteri intestinali durante il metabolismo proteico in seguito a eccesso di proteine nella dieta, o per sanguinamento intraluminale da varici venose con successivo aumento di proteine di origine ematica, ecc.

L'iperammoniemia può essere grossolanamente correlata all'entità del danno cerebrale.

## **1.b. Test di escrezione**

### ***Bilirubina***

La bilirubina è un pigmento giallo-arancio che riflette il continuo turnover metabolico che interessa il gruppo eme presente nelle emoproteine (emoglobina, mioglobine, citocromi, enzimi emoproteici, ecc.). Studi metabolici hanno mostrato che la maggior parte della bilirubina (80%) proviene dal catabolismo dell'emoglobina (turnover dei GR) nella milza, nel fegato e nel midollo; circa il 15% deriva dalla degradazione di catalasi, mioglobina e citocromi, mentre il 5% dall'eritropoiesi inefficace. La bilirubina così prodotta in periferia è trasportata al fegato nel plasma dove, a causa della sua insolubilità in soluzioni acquose, è strettamente legata all'albumina in un rapporto molare di 1:1. Si parla in questo caso di bilirubina non coniugata o indiretta. La bilirubina libera è detta indiretta perché reagisce con il reagente solo dopo il distacco dall'albumina.

La produzione giornaliera di bilirubina non coniugata è di circa 275 mg e ha luogo soprattutto nel sistema reticoloendoteliale di fegato, milza e midollo osseo. Il legame con l'albumina impedisce che la bilirubina non coniugata, che è liposolubile e potenzialmente anche tossica, sia captata a livello extraepatico e trasportata al fegato. La bilirubina esiste anche in un'altra forma, detta frazione diretta o coniugata, che è invece idrosolubile e può essere quindi eliminata dal rene. La bilirubina glucuronata è detta diretta perché reagisce direttamente con il reattivo del dosaggio (proprio a causa della sua idrosolubilità e biodisponibilità).

Circa il 30% della bilirubina totale è bilirubina diretta o coniugata. In condizioni normali, la bilirubina è rimossa dalla circolazione rapidamente e in modo efficace dagli epatociti. A livello del fegato, il complesso bilirubina-albumina si dissocia. Il trasferimento della bilirubina dal sangue alla bile comprende quattro fasi

- captazione epatocellulare: la bilirubina presente nel sangue sinusoidale raggiunge la superficie dell'epatocita attraverso le fenestrazioni delle cellule endoteliali ed entra nella cellula epatica sia per processi di trasporto facilitato sia per semplice diffusione;

- legame cellulare: all'interno della cellula la bilirubina si lega alla glutatione-S-trasferasi;
- coniugazione: la bilirubina viene coniugata nel reticolo endoplasmatico con una o due molecole di acido glucuronico da una specifica UDP-glucuroniltrasferasi (UGT1A1) per formare rispettivamente i mono- e i di-glucuronidi della bilirubina. Tali composti sono altamente solubili in acqua e poco tossici rispetto alla bilirubina libera;
- escrezione della bile: i mono- e di-glucuronidi di bilirubina vengono escreti nei canalicoli biliari attraverso la membrana plasmatica canalicolare con un processo di trasporto ATP-dipendente mediato da una proteina della membrana canalicolare, detta MRA2.

Dopo l'escrezione nella bile, la bilirubina coniugata raggiunge il duodeno e percorre l'intestino senza riassorbimento da parte della mucosa intestinale. A questo punto, i glucuronidi, sotto forma di pigmenti biliari, sono scissi dalle idrolasi batteriche e la bilirubina è ridotta dai batteri intestinali in un composto incolore idrosolubile, detto urobilinogeno, che va incontro a circolazione entero-epatica: una parte raggiunge il fegato attraverso la circolazione portale e viene riescreto nella bile, un'altra parte viene riassorbita dall'intestino, mentre un'altra quota ancora raggiunge la circolazione generale e viene escretata con le urine. L'urobilinogeno viene anche trasformato in stercobilinogeno, e quindi in stercobilina, che viene infine eliminata nelle feci.

La bilirubina non coniugata di solito non raggiunge l'intestino e non viene eliminata con le urine, perché troppo strettamente legata all'albumina. I coniugati della bilirubina sono, invece, rapidamente filtrati dal glomerulo renale e si possono ritrovare nell'urina nel corso di malattie caratterizzate dalla presenza in circolo di aumentati livelli di bilirubina coniugata.

Solitamente la bilirubinemia viene misurata tramite metodo DMSO come quantità totale (v.n. fino 1,10 mg/dL) e come bilirubina diretta (v.n: 0,05-0,30 mg/dL): sottraendo la quota diretta dalla totale, si ottiene la bilirubina indiretta (v.n: 0,15-0,80 mg/dL).

La bilirubina viene usata come parametro di funzionalità secretoria.

L'ittero, come conseguenza di iperbilirubinemia, si verifica in seguito a:

- iperproduzione di bilirubina nell'organismo e incapacità della cellula epatica di captare, coniugare ed eliminare il pigmento: ciò determina un aumento della bilirubina indiretta (es. incompatibilità materno-fetale di tipo Rhesus, emolisi dei GR, eritropoiesi inefficace, farmaci);
- non aumento della produzione di bilirubina, ma difetto funzionale dell'epatocita (alterazione dei meccanismi di captazione, trasporto o escrezione) con conseguente

aumento della bilirubina diretta e indiretta (es. Sindrome di Gilbert, uso di farmaci epatotossici, Sindrome di Crigler-Najjar I e II);

- incapacità di escrezione della bilirubina attraverso le vie biliari, dovuta a ostacolo meccanico intra- o extra-epatico (es. ostruzione da calcoli, neoplasie, epatite virale, ecc.), oppure per difetti ereditari (es. Sindrome di Dubin-Johnson) con conseguente aumento della bilirubina diretta.
- Alla luce di quanto detto, l'ittero si può classificare in:
- ittero emolitico, in cui la bilirubina in eccesso è quella indiretta (legata all'albumina) che non viene escreta nelle urine (bilirubinuria assente/ridotta);
- ittero epatocellulare, in cui la bilirubina circolante è in gran parte nella forma glucuronata (diretta) idrosolubile, con conseguente bilirubinuria più o meno accentuata;
- ittero ostruttivo, in cui si ha aumento in circolo di bilirubina diretta e quindi elevata bilirubinuria.

Un aumento della bilirubina indiretta è quindi raramente dovuto a una malattia epatica, invece è caratteristico delle malattie emolitiche e di alcune malattie genetiche. Di conseguenza, la quantificazione della bilirubina non coniugata è utile qualora si sospetti un'anemia emolitica e, poiché la velocità di produzione della bilirubina è direttamente correlata alla vita media degli eritrociti, la sua concentrazione nel plasma aumenta quando la vita media degli eritrociti diminuisce.

Al contrario, un'iperbilirubinemia coniugata o diretta indica quasi sempre una malattia del fegato o delle vie biliari. La fase che rallenta il metabolismo della bilirubina non è la coniugazione della bilirubina, ma piuttosto il trasporto della bilirubina coniugata nei canalicoli biliari. Quindi un aumento di bilirubina coniugata può essere presente in ogni tipo di malattia epatica.

È da considerare, tuttavia, che la quantità di bilirubina nel plasma deriva dal bilancio tra quella prodotta e quella eliminata. Mentre ogni giorno sono prodotte circa 500  $\mu\text{mol/L}$  di bilirubina, il fegato normale è in grado di coniugarne fino a 2000 al giorno. Questa riserva funzionale spiega la relativa insensibilità di questo esame: esso risulta alterato solo dopo che si è verificata una notevole perdita di epatociti o è in atto una grave disfunzione. Inoltre, la sua emivita di 20 giorni giustifica il prolungarsi dell'ittero nei pazienti già in convalescenza da un'ostruzione o da un'epatite. La concentrazione assoluta di bilirubina nel plasma è così di scarsa utilità diagnostica mentre diventa importante nel monitorare la patologia.



Poiché la bilirubina non coniugata è legata all'albumina e quindi non viene filtrata dal rene, l'unica bilirubina che si può trovare nelle urine è quella coniugata; la sua presenza significa che vi è una malattia epatica e può essere stimata in modo semiquantitativo con specifiche strisce reattive. Con lo stesso approccio, può essere misurato anche l'urobilinogeno (in questo caso la sua ridotta concentrazione urinaria indica un'insufficiente escrezione biliare e quindi un'ostruzione), ma la difficoltà a determinare le sue basse concentrazioni urinarie rende tale esame poco attendibile.

### **1.c. Test di citolisi**

#### **Attività enzimatiche epatocitarie**

Il fegato contiene migliaia di enzimi, alcuni dei quali sono presenti anche nel siero a concentrazioni molto basse. L'aumento dei livelli di un dato enzima nel siero riflette un danneggiamento delle cellule epatiche. Gli enzimi sierici possono essere suddivisi in tre gruppi: 1) enzimi il cui aumento riflette un danno degli epatociti; 2) enzimi il cui aumento nel siero è dovuto a colestasi; 3) enzimi che non rientrano nei due gruppi precedenti.

#### ***Enzimi sierici come indicatori di danno epatocellulare/necrosi***

Le aminotrasferasi o transaminasi sono indicatori sensibili di danno epatico. Esistono due tipi di aminotrasferasi: l'aspartato aminotrasferasi (AST o GOT) e l'alanina aminotrasferasi (ALT o GPT). Le AST sono enzimi principalmente legati ai mitocondri (80%) e ubiquitari, infatti sono presenti nel fegato, nel miocardio, nel muscolo scheletrico, nei reni, nel cervello, nel pancreas, nei polmoni, nei leucociti e negli eritrociti. Di conseguenza possono aumentare, oltre che nelle epatopatie a causa della lisi cellulare, anche in altre condizioni patologiche (es. infarto del miocardio).

Le ALT sono invece enzimi citoplasmatici, anch'essi ubiquitari, ma presenti nel fegato in quantità maggiori che negli altri tessuti. Il loro aumento nel siero avviene quindi essenzialmente nelle epatopatie.

Qualunque tipo di danno delle cellule epatiche può causare un aumento modesto delle transaminasi.

Tale aumento origina dagli epatociti necrotici o danneggiati, con conseguente aumento della loro permeabilità (in minor misura per danneggiamento funzionale cellulare). Le AST e le ALT

sono considerati indicatori sensibili capaci di evidenziare presenza di lesioni epatiche anche in pazienti asintomatici. Tuttavia, livelli sierici fino a 300 U/L sono aspecifici e possono essere osservati in ogni tipo di malattia epatica. Al contrario, aumenti superiori a 1000 U/L si osservano quasi esclusivamente nelle malattie con esteso danno epatocellulare, come l'epatite virale, danno epatico ischemico e danno epatico da sostanze tossiche o da farmaci.

In quasi tutte le epatopatie, l'attività sierica dell'ALT è maggiore di quella dell'AST. Fanno eccezione l'epatite alcolica, la cirrosi epatica e le neoplasie del fegato.

Negli adulti gli intervalli di riferimento relativi all'attività sierica di AST e ALT variano con il sesso. Impiegando metodi standardizzati (a 37°C), i limiti superiori di riferimento sono 31 U/L (femmine) e 35 U/L (maschi) per l'AST e 34 U/L (femmine) e 45 U/L (maschi) per l'ALT. Nei bambini fino a 15 anni, l'attività dell'AST è lievemente più alta di quella dell'ALT.

Non sempre le transaminasi si innalzano in ugual modo: a tale proposito è importante tenere presente il rapporto AST/ALT (indice di De Ritis) che raggiunge un valore superiore a 2 nell'80% dei casi di epatite alcolica; in corso di epatite non alcolica il rapporto è inferiore a 1, mentre un valore molto elevato (circa 10) è indice di epatite acuta (virale o da farmaci o autoimmune).

### ***Enzimi che riflettono la colestasi***

In caso di colestasi aumentano i livelli di tre enzimi: fosfatasi alcalina (ALP), 5'-nucleotidasi e  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidasi ( $\gamma$ -GT o GGT). La fosfatasi alcalina e la 5'-nucleotidasi sono localizzate all'interno o in prossimità della membrana canalicolare biliare degli epatociti, mentre la GGT è localizzata nel reticolo endoplasmatico e nelle cellule epiteliali dei dotti biliari.

La fosfatasi alcalina è considerata un parametro di stasi biliare. Si tratta di un enzima molto diffuso in vari tessuti e organi, soprattutto nel fegato e nelle ossa, ma anche nell'intestino, nel rene e nella placenta. Il normale livello sierico di fosfatasi alcalina è quindi correlato ai livelli dei diversi isoenzimi (epatico, osseo, intestinale, renale e placentare).

L'ALP aumenta in due condizioni fisiologiche: nei bambini (per l'accrescimento osseo) e in gravidanza (isoenzima circolante di origine placentare). Inoltre, un aumento dell'attività della fosfatasi alcalina nel siero può essere inoltre osservato in tutti i tipi di malattia epatica, nelle epatiti da farmaci tossici e in tutte le condizioni che causino un'ostruzione delle vie biliari, dalle ostruzioni dei canalicoli intraepatici, come nella cirrosi biliare primitiva, fino all'ostruzione del dotto comune, come nella calcolosi biliare. Aumenti maggiori (> 3 volte il limite superiore di riferimento) si hanno in corso di ostruzioni extraepatiche (per calcoli o stenosi del coledoco o cancro della testa del

pancreas), malattie infiltrative del fegato o malattie ossee, mentre ostruzioni dei dotti intraepatici (come nella cirrosi biliare primitiva) danno origine ad aumenti più contenuti. L'aumento dell'ALP nel siero può precedere l'insorgenza dell'ittero e segue l'abbassamento della bilirubina che si accompagna alla risoluzione dell'ostruzione. L'aumento dell'ALP non deriva né dall'incapacità del fegato a secernere l'enzima (come si verifica per la bilirubina), né dalla sua liberazione dagli epatociti danneggiati (come si verifica per le aminotrasferasi). Si ritiene piuttosto che la colestasi ne stimoli la sintesi epatocitaria: l'aumentata concentrazione dei sali biliari o di altri detergenti facilita il rilascio di ALP dalle membrane cellulari.

È importante l'utilizzo di appropriati intervalli di riferimento nell'interpretare i risultati dell'ALP nei bambini, nei quali, come abbiamo detto sopra, i valori sono marcatamente più elevati (54-369 U/L) in seguito all'aumento dell'attività degli osteoblasti durante la crescita ossea. Significative differenze esistono tra maschi e femmine adulti nella fascia di età tra i 20 e i 50 anni (M: 53-128 U/L, F: 42-98 U/L). Infine i limiti di riferimento aumentano nelle donne dopo i 60 anni (53-141 U/L).

Se l'aumento dell'ALP è l'unico esame al di fuori della norma in una persona apparentemente sana, o è maggiore di quanto atteso in un certo contesto clinico, allora è utile identificare la sua origine.

Se si utilizzano metodi che determinano l'attività dell'ALP totale nel siero, come avviene normalmente su tutti gli analizzatori automatici, non è possibile discriminare a quale degli isoenzimi o forme molecolari siano attribuibili eventuali aumenti dell'ALP. Nei metodi comunemente utilizzati, inoltre, l'impiego di anticoagulanti complessanti, come citrato, ossalato ed EDTA, deve essere evitato, in quanto essi legano cationi, quali zinco e magnesio, che rappresentano cofattori necessari alla misura dell'attività enzimatica.

La metodica di maggiore utilità è dunque il frazionamento dell'ALP nelle sue forme enzimatiche tramite elettroforesi su poliacrilamide o acetato di cellulosa, anche se (a causa di differenze nell'affinità con specifiche lectine o immunologiche) può essere associata a maggiori difficoltà procedurali. Mediante la tecnica elettroforetica, dopo specifiche colorazioni si possono riconoscere le tre frazioni distinte, che corrispondono rispettivamente agli isoenzimi epatico, osseo e intestinale. Con l'ausilio di particolari pretrattamenti (con lectina di germe di grano o con neuraminidasi per 15 min a 37°C), la separazione tra la frazione epatica e quella ossea può essere migliorata, consentendo anche una quantificazione per via densitometrica. L'odierna disponibilità di metodi immunologici si limita alla determinazione dell'isoenzima osseo, anche se finora tutti gli

anticorpi utilizzati nei metodi commerciali hanno mostrato una significativa cross-reazione tra ALP epatica e ossea, con la conseguente impossibilità di ottenerne una misura accurata.

In condizioni routinarie, è stata consigliata l'associazione della determinazione dell'ALP totale con altri enzimi più specificamente epatici, quali la  $\gamma$ -glutamilttransferasi o la 5'-nucleotidasi, al fine di discriminare l'origine degli aumenti dell'ALP nel siero. È tuttavia ormai chiaro che il significato fisiopatologico di questi differenti enzimi è sostanzialmente diverso e che condizioni di epatopatia con comportamenti disomogenei dei vari indicatori biochimici non sono rare.

La GGT è un enzima a prevalente localizzazione microsomiale, responsabile del trasferimento dei gruppi glutammici dai peptidi  $\gamma$ -glutammici ad altri peptidi o aminoacidi. Esso è anche presente (sottoforma di glicoproteina) sulla membrana cellulare, principalmente nelle cellule del tubulo renale prossimale, nel fegato, nel pancreas e nell'intestino. Tuttavia, l'attività della GGT nel sangue deriva soprattutto dal fegato. È inoltre responsabile della sintesi intracellulare di glutatione.

La GGT è un indicatore sensibile di epatopatia, utilizzato come parametro di stasi biliare, ma il suo impiego è limitato dalla scarsa specificità per il tipo di danno. Tale enzima infatti può semplicemente rappresentare una spia di abuso di alcol in quanto l'alcol etilico ne stimola la sintesi epatica, anche senza epatopatie associate. Viene pertanto utilizzato soprattutto nello screening e nel follow-up di alcolisti sottoposti a terapia.

Elevate concentrazioni plasmatiche si osservano anche in seguito ad assunzione di farmaci, come la rifampicina e gli antiepilettici, che hanno un effetto tossico sulle strutture microsomiali dell'epatocita.

Dunque, sia il danno epatocellulare che la colestasi possono contribuire all'aumento di GGT sierica. Nell'adulto si adotta un unico limite di riferimento, anche se è necessaria una partizione sessuale (38 U/L per le femmine e 55 U/L per i maschi) e razziale (i soggetti di origine africana mostrano valori all'incirca doppi). Alla nascita l'attività sierica della GGT è circa 6-7 volte quella dell'adulto, per poi raggiungere i valori normali dopo 5-7 mesi.

Il complesso delle attività enzimatiche utilizzate nello studio delle epatopatie (AST, ALT, ALP e GGT), pur non permettendo di stabilire l'eziologia della malattia interessante il fegato, se interpretate al meglio, può aiutare a definire il tipo e la gravità dell'epatopatia. In corso di epatite acuta, il marcato aumento dell'attività delle due aminotrasferasi nel siero riflette bene il processo acuto. Nei processi subacuti e cronici, il rapporto AST/ALT è vicino all'unità; nell'epatopatia a genesi alcolica è inoltre indicativo il contemporaneo aumento della GGT, mentre nell'epatite virale cronica sono le aminotrasferasi che raggiungono discreti livelli di attività. Valori abnormi di ALP e

GGT evidenziano, con elevata sensibilità, condizioni di colestasi intraepatica. Aumenti più marcati di questi due enzimi, associati a lievi o moderati aumenti dei valori delle transaminasi, sono caratteristici sia di ostruzioni biliari a sede extraepatica che di processi neoplastici primitivi o secondari interessanti il fegato (in questo caso si associa il significativo aumento della concentrazione di un altro enzima sierico, la lattato deidrogenasi o LDH). Infine la GGT è utile nel discriminare aumenti dell'attività dell'ALP sierica dovuti a epatopatia da quelli dovuti a coinvolgimento del tessuto osseo. Spesso i quadri descritti, specialmente quelli più lievi, si presentano in soggetti del tutto asintomatici come scoperta accidentale. Numerosi studi hanno dimostrato che in soggetti asintomatici, con moderati e persistenti aumenti delle transaminasi, esiste sempre una condizione di sofferenza epatica, diagnosticabile morfologicamente, la quale può andare dalla più frequente steatosi all'epatite cronica fino ad una vera e propria cirrosi.

## **2. TEST DI SECONDO LIVELLO DI FUNZIONALITA' EPATICA SPECIFICA**

I test di I livello forniscono informazioni di danno e di funzionalità, ma nessuno di loro può essere considerato indicatore affidabile sia per quantificare la riserva funzionale epatica sia per diagnosticare l'insorgenza di complicanze di malattie epatiche acute e croniche. Per superare queste limitazioni, nelle ultime decadi, sono stati proposti numerosi test dinamici: ciascuno di questi, esplorando una singola via metabolica, è in grado di valutare in parte la massa funzionale epatica.

### **2.a. Capacità di eliminazione del galattosio**

La capacità di eliminazione del galattosio misura la clearance, per opera della fosforilazione epatica, di galattosio somministrato per via endovenosa. Questo esame è stato utilizzato per predire la sopravvivenza nei pazienti con cirrosi biliare primitiva e per il monitoraggio della terapia con interferone in corso di epatite virale cronica.

### **2.b. Test del respiro ("breath test")**

I breath-test sono basati sulla somministrazione di un composto in cui l'atomo  $^{12}\text{C}$  del carbonio posto in un gruppo funzionale della molecola è sostituito da un isotopo stabile ( $^{13}\text{C}$ ). Il gruppo funzionale, così marcato, segue la sua via metabolica fino alla trasformazione finale in  $^*\text{CO}_2$ .

Il test consente di valutare l'integrità della via funzionale esplorata analizzando la percentuale di  $^{13}\text{C}$  nell'aria espirata per mezzo di uno spettrofotometro di massa a rapporto isotopico (IRMS) o uno spettrometro a raggi infrarossi.

Il più usato tra questi test è il breath test con aminopirina, basato sulla demetilazione, citocromo P450-dipendente, dell'aminopirina, legata al tracciante  $^{13}\text{C}$ , a diossido di carbonio. Le sue applicazioni sono le stesse dell'esame precedente.

### **2.c. Clearance del verde di indocianina**

La valutazione della clearance del verde di indocianina sembra fornire risultati migliori degli esami precedenti, al fine di discriminare la severità della malattia nei pazienti cirrotici, forse perché esso può fornire informazioni sul flusso sanguigno nel fegato utili a postulare la presenza e estensione di ipertensione portale e di varici esofagee.

### **2.d. Test di formazione del monoetilglicinaexilidide (MEGX)**

Anche il test di formazione del MEGX è un'indagine citocromo P450-dipendente che si basa sulla trasformazione epatica della lidocaina, somministrata per via endovenosa, in MEGX. L'esame consiste nella determinazione, eseguita con un metodo automatizzato, della MEGX in un unico campione di sangue raccolto 15-30 minuti dopo l'iniezione di lidocaina. Questa indagine è stata valutata in numerose situazioni cliniche con presenza di danno epatico senza particolare successo.

## **3. TEST DIAGNOSTICI DI PATOLOGIA EPATICA**

### **3.a. Alfa-1-antitripsina**

L'alfa-1-antitripsina è una proteina prodotta soprattutto dal fegato, ma anche dai macrofagi e dalle cellule epiteliali respiratorie, e successivamente immessa nel circolo sanguigno con la funzione di inibire le proteasi seriniche sieriche extracellulari (collagenasi, elastasi) liberate dai leucociti nella sede di infiammazione o da altri tessuti come il fegato e il pancreas. È utile per limitare i danni citolitici nel tessuto sano circostante la sede dell'infiammazione. Si tratta di una proteina di fase acuta che aumenta in caso di patologia epatica con infiammazione del parenchima.

Questa proteina viene utilizzata come parametro diagnostico del deficit da alfa-1-antitripsina, una rara malattia ereditaria che colpisce polmoni e fegato e che si manifesta nelle persone che ne hanno una quantità insufficiente. La malattia epatica è presumibilmente determinata dall'accumulo nelle cellule del fegato di una forma di alfa-1-antitripsina anomala che costituisce degli aggregati insolubili all'interno delle cellule. Questa mutazione genetica della proteina è la causa di una rara epatite colestatica cronica neonatale, che si manifesta soprattutto nei bambini, con epatomegalia e anomalie della funzione epatica. L'eterozigosi per l'allele Z, e in minor misura per l'allele S, è stata anche associata a cirrosi epatica ed epatocarcinoma negli adulti. Sembra che il deficit di alfa-1-antitripsina sia più frequente nei pazienti affetti da NAFLD (*non alcoholic fatty liver disease*).

La diagnosi di laboratorio si basa sull'analisi delle alfa-globuline (di cui l'alfa-1-antitripsina costituisce il 90%) con l'evidenza dell'assenza del picco nella banda delle alfa-globuline all'elettroforesi proteica, sul dosaggio specifico dell'alfa-1-antitripsina e sulla determinazione fenotipica.

### **3.b. Alfa-fetoproteina**

È una glicoproteina con caratteristiche molto simili a quelle dell'albumina. Viene usata come indicatore di proliferazione cellulare.

Nel feto, l'AFP è sintetizzata dal sacco vitellino, dal fegato e dall'intestino; alla nascita presenta concentrazioni plasmatiche intorno a 30.000µg/L, che diminuiscono rapidamente, arrivando a 3.000µg/L dopo circa un mese e a 10µg/L (la concentrazione media dell'adulto) intorno a sei mesi di vita. Viene spesso utilizzata come marker tumorale di epatocarcinoma, condizione in cui l'AFP sembra essere prodotta solamente dalle cellule neoplastiche e può raggiungere concentrazioni plasmatiche anche vicine al g/L. La sua interpretazione è tuttavia complicata dall'intermittenza degli aumenti, che si può verificare nel 10-15% dei soggetti. È raccomandato di misurare almeno una volta l'anno la concentrazione plasmatica di AFP nei portatori cronici di HbsAg, mentre nei pazienti con altri fattori di rischio (cirrosi, anamnesi familiare) alla determinazione dell'AFP dovrebbe anche essere affiancata l'ecografia epatica.

Nei paesi occidentali il valore predittivo della determinazione dell'AFP per la diagnosi di epatocarcinoma rimane basso.

Determinazioni seriate delle concentrazioni di AFP nel plasma possono essere anche utili per il monitoraggio della risposta alla terapia. Nel singolo paziente la concentrazione di AFP varia

in proporzione della massa del tumore e aumenta in modo esponenziale in assenza di terapia. Dopo resezione chirurgica del tumore, le concentrazioni plasmatiche di AFP ritornano all' interno dell'intervallo di riferimento. In questo caso, tuttavia, esse devono essere ancora monitorate mensilmente per molti mesi al fine di escludere un secondo aumento dovuto a una recidiva tumorale.

### **3.c. Markers di epatite virale**

L'epatite è un'infezione sistemica che interessa soprattutto il fegato. Quasi tutti i casi di epatite acuta virale sono causati da uno dei seguenti cinque virus: virus dell'epatite A (HAV), virus dell'epatite B (HBV), virus dell'epatite C (HCV), virus dell'epatite D (HDV) e virus dell'epatite E (HEV). Sono tutti virus a RNA, a eccezione del virus dell'epatite B che è a DNA. Sebbene questi agenti siano differenziati in base alle loro caratteristiche molecolari antigeniche, tutti i tipi di epatite virale determinano manifestazioni cliniche simili.

#### ***Epatite A***

L'HAV è un virus a RNA non capsulato che si replica solo nel fegato. L'epatite A è una malattia a trasmissione oro-fecale, ha un periodo di incubazione di circa 4 settimane, dopo il quale il virus è presente nel fegato, nella bile, nelle feci e nel sangue. Durante la fase acuta, quando le aminotrasferasi sono elevate e il virus è ancora presente nelle feci, è possibile individuare gli anticorpi anti-HAV. Si tratta di immunoglobuline IgM che permangono per diversi mesi. Durante la convalescenza, invece, gli anticorpi anti-HAV prevalenti sono di classe IgG. Quindi la diagnosi di epatite A può essere fatta in fase acuta dimostrando la presenza di un alto titolo di anticorpi anti-HAV di classe IgM. Successivamente alla fase acuta gli anticorpi anti-HAV di classe IgG restano dosabili per un periodo di tempo indefinito, durante il quale il paziente è immune da un'eventuale reinfezione.

#### ***Epatite B***

L'HBV è un virus a DNA che si replica nel fegato, sebbene sia possibile trovarlo anche in sedi extraepatiche. La proteina di rivestimento espressa sulla superficie esterna del virus è indicata come antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg). L'antigene presente sulla superficie del core nucleocapsidico è definito antigene del core dell'epatite B (HBcAg). Un terzo antigene associato all'epatite B è l'antigene e (HBeAg), una proteina nucleocapsidica solubile e non corpuscolare.



Le particelle di HBcAg rimangono negli epatociti (dove possono essere facilmente evidenziate con tecniche immunoistochimiche) e fuoriescono solo dopo essere state rivestite dall'involucro di HBsAg. Quindi le particelle core senza involucro non circolano nel siero. La proteina nucleocapsidica che viene secreta, cioè l'HBeAg, è un marcatore facilmente individuabile, indice di replicazione e di relativa infettività dell'HBV.

Nelle fasi precoci dell'epatite acuta B, l'HBeAg compare transitoriamente e la sua scomparsa preannuncia il miglioramento clinico e la guarigione. La sua persistenza nel siero dopo i primi 3 mesi di infezione acuta preannuncia la cronicizzazione dell'epatite .

Dopo il contagio con virus HBV, il primo marcatore virale che compare nel siero nell'arco di 1-2 settimane è l'HBsAg, la cui positività permane sia nella fase sintomatica della malattia che successivamente. Dopo la scomparsa dell'HBsAg è rilevabile nel siero la presenza di anticorpi anti-HBs; la loro positività ha una durata indefinita.

L'HBcAg, invece, non è rilevabile di routine nel siero dei pazienti infetti perchè localizzato in sede intracellulare e, come detto precedentemente, quando presente nel siero non circola come particella "nuda", bensì racchiuso nell'involucro immunologicamente riconoscibile come HBsAg. Al contrario, gli anticorpi contro l'HBcAg (anti-HBc) compaiono precocemente nel siero, già 1-2 settimane dopo la comparsa dell'HBsAg. Tra la scomparsa dell'HBsAg e la comparsa degli anti-HBs può esservi un intervallo di tempo di alcune settimane, definito "finestra", durante il quale la presenza di anticorpi anti-HBc può costituire l'unica evidenza sierologica di un'infezione da HBV recente o in atto.

Il titolo degli anti-HBc nel sangue cresce con il progredire della malattia. La scomparsa dei virus completi dal sangue comincia durante la fase acuta della malattia, di solito prima del picco della concentrazione delle transaminasi, e i pazienti diventano HBcAg negativi quando la sintomatologia regredisce. Tuttavia il fegato continua a produrre grandi quantità di proteine di rivestimento (HBsAg) che si possono rilevare nel plasma per molte settimane. Gli anticorpi anti-HBe cominciano a comparire nel plasma con il diminuire della viremia e continuano ad aumentare per molti mesi. Il passaggio dall'antigenemia HBe alla produzione di anticorpi anti-HBe, la scomparsa degli HBsAg e la comparsa degli anticorpi anti-HBs (sieroconversione) nel plasma indicano la transizione a una fase in cui il paziente è meno contagioso. Infine, la comparsa nel plasma delle IgG anti-HBc assicura la protezione contro la reinfezione.

L'aumento delle concentrazioni plasmatiche delle IgM anti-HBc è considerato il "gold standard" per la diagnosi di epatite B acuta. Tali anticorpi possono essere presenti, con oscillazioni e a basso titolo, anche nell'epatite B cronica a causa di una riattivazione della malattia. Gli anticorpi

IgG anti-HBc permangono per tutta la vita. Alla presentazione di un'infezione acuta da HBV è di norma presente HBsAg, mentre sono assenti gli anti-HBs, ma occasionalmente possono essere assenti entrambi, lasciando come unico indicatore di infezione le IgM anti-HBc. In tale condizione, coesiste peraltro una positività per HBeAg o anti-HBe. Durante la convalescenza dall'infezione, si ha contemporanea scomparsa di HBsAg e comparsa di anti-HBs.

Non è sempre facile risalire all'inizio di una cronicizzazione di un'epatite B. Le concentrazioni plasmatiche delle aminotrasferasi possono normalizzarsi, ma la positività di HBsAg, HBeAg e IgM anti-HBc persiste, con i pazienti che rimangono altamente contagiosi: questa condizione può permanere per tutta la vita o si può verificare una sieroconversione spontanea o in risposta a terapia antivirale. Nei soggetti cronicamente positivi per HBsAg, è utile determinare HBeAg e anti-HBe per definire lo stato dell'infezione. HBeAg è prodotto solo dal virus in replicazione ed è quindi un indice indiretto della produzione di DNA virale nell'epatocita. Nel soggetto HBeAg positivo, la negativizzazione di HBeAg e la sieroconversione alla positività degli anticorpi anti-HBe sono tipicamente associate a negatività della ricerca di HBV-DNA, normalizzazione delle transaminasi e miglioramento istologico, implicando un basso grado di replicazione del virus e un significativo miglioramento clinico.

L'esame più utile per seguire i pazienti con epatite B cronica in terapia antivirale è la determinazione delle concentrazioni plasmatiche dell'HBV-DNA. La scomparsa dal sangue del HBV-DNA è un indicatore più precoce della risposta alla terapia antivirale della negativizzazione del HBeAg. Tuttavia, bisogna sottolineare che attualmente non esiste una standardizzazione della misura del HBV-DNA e che la sensibilità dei vari metodi è molto diversa. Non è quindi strano che in un buon numero di pazienti negativi per HBsAg e positivi per anti-HBs, anti-HBe e anti-HBc sia ancora possibile misurare HBV-DNA circolante con metodi basati su amplificazione PCR a distanza di mesi o anni dalla guarigione clinica. Il significato di questo reperto non è chiaro, ma ciò sembra suggerire come molti pazienti, considerati guariti da infezione HBV, in realtà mantengono, anche a distanza di anni alla guarigione clinica, un certo grado di replicazione virale, seppur basso e controllato. È comunque urgente definire esattamente sotto quale concentrazione plasmatica di HBV-DNA un paziente si possa considerare guarito.

### *Epatite C*

HCV è un virus a RNA che nella maggior parte dei casi provoca un'infezione cronica. Essendo una patologia quasi asintomatica, i pazienti con epatite C ne hanno cognizione solo quando

si manifestano i segni della sua evoluzione in epatopatia cronica o dopo il riscontro accidentale di aumentate concentrazioni plasmatiche di aminotrasferasi o di presenza di anticorpi anti-HCV.

Non esistono oggi metodi commerciali per la rivelazione diretta degli antigeni del HCV, per cui si ricorre alla misura degli anticorpi anti-HCV. L'infezione col virus si accompagna entro poche settimane alla comparsa di anticorpi anti-HCV che persistono per tutta la fase viremica; perciò la presenza di anticorpi anti-HCV indica un'infezione in corso. Utilizzando metodi immunoenzimatici di 2° generazione (EIA-2), si può rilevare la comparsa in circolo di anticorpi contro le proteine virali a partire da 1 a 4 mesi dopo l'avvenuta infezione. Una più recente generazione di metodi (EIA-3) consente un leggero miglioramento della sensibilità analitica rispetto agli EIA-2, a scapito però di un aumento dei risultati falsi-positivi. Tale miglioramento consente di abbreviare il tempo necessario alla positivizzazione degli anticorpi a circa 7-8 settimane dopo l'infezione. Nei pazienti che hanno eliminato l'HCV dal circolo, il titolo anticorpale tende gradualmente a diminuire per poi negativizzarsi nel 6-10% degli individui infetti.

Nel caso di un sospetto di risultati falsi-positivi ottenuti con metodi EIA, è possibile ricorrere a metodi alternativi, come quelli basati su "immunoblotting" (RIBA), oppure sulla rivelazione nel plasma di HCV-RNA. La sua presenza identifica un'infezione attiva. Tale positività può essere rilevata molto precocemente (entro 1-2 settimane dall'avvenuta infezione).

In conclusione, per la diagnosi di infezione (pregressa o in atto) da HCV in un soggetto con alta probabilità di malattia, la determinazione degli anticorpi anti-HCV mediante metodi EIA risulta adeguata. Se necessita la conferma che si tratti di un'infezione attiva, può essere utilizzata la determinazione del HCV-RNA. Il ricorso a metodi RIBA è giustificato solo per confermare risultati di anticorpi anti-HCV positivi con EIA, ottenuti in soggetti a basso rischio di malattia, o per confermare una pregressa infezione in caso di HCV-RNA negativo.

### **3.d. Markers di epatite alcolica**

L'abuso cronico di alcol è una delle più importanti cause di epatopatia.

Dal punto di vista istologico, si possono riconoscere tre forme di danno epatico legato all'azione dell'alcol:

- steatosi ("fatty liver");
- epatite alcolica;
- fibrosi/cirrosi.

La steatosi, cioè l'accumulo di grasso negli epatociti perivenulari, è la forma più benigna delle lesioni epatiche indotte da alcol ed è spesso reversibile con l'eliminazione dell'assunzione di alcol. Se il consumo di alcol persiste, l'accumulo di grasso si estende a tutto il lobulo epatico con formazione di larghi vacuoli di grasso che possono rompere gli epatociti e indurre una reazione infiammatoria che porta alla formazione di lipogranulomi (epatite alcolica). Il passo successivo è la fibrosi caratterizzata da produzione e deposizione di proteine, tra cui collagene, laminina, elastina e fibronectina, ed enzimi che intervengono nella sintesi del collagene. La presenza di fibrosi può poi portare a distorsione strutturale del fegato con formazione di noduli di rigenerazione. Ciò determina riduzione della massa epatica funzionante e un'alterazione della circolazione epatica (cirrosi).

Oltre ad alterazioni biochimiche come aumento delle transaminasi, con rapporto AST/ALT >1, aumento della GGT, della trigliceridemia, dell'MCV degli eritrociti e delle immunoglobuline sieriche (soprattutto IgA), la determinazione della transferrina desialilata nel plasma (CDT) sembra essere promettente come indagine per evidenziare un abuso di alcol. Nel plasma esistono diverse forme di transferrina, differenti per il contenuto di residui di acido sialico. Nei soggetti sani predominano le forme tri- tetra- e penta-sialilate, mentre nei soggetti forti bevitori la transferrina perde la maggior parte dei residui salici. In linea generale, un consumo di più di 80 g di alcol al giorno per almeno una settimana aumenta le concentrazioni plasmatiche di CDT, che poi possono normalizzarsi dopo circa due settimane di astinenza. Esistono tuttavia ancora alcuni problemi legati sia alla specificità analitica dei vari metodi di dosaggio della CDT che alla minore affidabilità dell'informazione fornita da questa indagine nei soggetti di sesso femminile.

### **3.e. Markers di epatite da farmaci**

Il fegato è il primo organo solido a venire a contatto con le sostanze ingerite e rappresenta la sede principale del metabolismo di molti farmaci e di altre sostanze potenzialmente tossiche.

Le reazioni biochimiche coinvolte nel metabolismo dei farmaci portano alla loro detossificazione, per azione di numerosi enzimi, soprattutto con funzione di ossidasi, attraverso la conversione di composti relativamente non-polari (liposolubili) in sostanze più polari (idrosolubili) che possono essere eliminate nella bile e nell'urina. In questi processi possono essere prodotti dei metaboliti reattivi che si legano rapidamente a molecole come acidi nucleici e proteine causando danni e necrosi cellulari. Alcune condizioni diminuiscono l'attività metabolica del fegato sui farmaci aumentando il rischio di una loro tossicità diretta: l'età neonatale e qualche volta avanzata, la malnutrizione (soprattutto con deficit di proteine) e, in generale, tutte le malattie gravi che insorgono in soggetti con preesistente epatopatia, nei quali la riduzione della funzione sintetica del

fegato può portare a ipoalbuminemia, con riduzione della quota legata e aumento della concentrazione libera dei farmaci.

Questo ruolo centrale del fegato nella biotrasformazione degli xenobiotici rappresenta un fattore molto importante nella possibilità di tali agenti di creare un danno epatico, anche se la suscettibilità individuale a un particolare farmaco o tossina è influenzata da molti fattori, quali predisposizione genetica, età, sesso, stato nutrizionale, malattie preesistenti e interazione con altri farmaci. È chiaro che può esistere una predisposizione genetica ad alcune reazioni di epatotossicità da farmaci: un polimorfismo genetico negli enzimi coinvolti nelle principali vie metaboliche può portare ad alterazioni di alcune tappe della trasformazione dei farmaci, responsabili almeno in parte di epatotossicità. I farmaci epatotossici possono danneggiare il fegato direttamente, cioè tramite radicali liberi o metaboliti intermedi che causano perossidazione dei lipidi di membrana e conseguente lesione degli epatociti. Un altro meccanismo di tossicità epatocellulare da farmaci può avvenire su base immuno-mediata. Il danno epatico da farmaci può essere di tipo epatocellulare (necrosie/o steatosi), colestatico o misto.

Il paracetamolo (acetaminofene) è il farmaco che causa il maggior numero di epatopatie da farmaci. Se assunto da solo come analgesico non causa tossicità fino alle dosi di 5 g (nell'adulto), mentre se viene assunto a dosi maggiori (per scopi suicidi) o insieme ad altri farmaci (fenitoina, fenobarbitale o alcol), che attivano il sistema citocromo P450, può causare un danno epatico grave.

Il quadro clinico e laboratoristico del danno epatocellulare acuto da farmaci può assomigliare a quello di un'epatite virale (anoressia, vomito, nausea, aumento delle transaminasi e della bilirubina, allungamento del PT, encefalopatia). In molti casi di epatotossicità da farmaci non ci sono manifestazioni cliniche e il danno è rivelato solo dall'aumento delle attività enzimatiche di origine epatocitaria nel plasma.

### **3.f. Markers di epatite autoimmune**

L'epatite autoimmune è una malattia cronica del fegato a causa sconosciuta, caratterizzata da persistente necrosi epatocellulare e infiammazione, di solito associate a fibrosi, che possono progredire verso la cirrosi e l'insufficienza epatica. Si presenta all'inizio come un'epatite virale, caratterizzata da frequenti riattivazioni. Il danno epatico è il risultato di una reazione immunitaria cellulo-mediata dei linfociti T contro gli epatociti. La diagnosi di epatite autoimmune è difficile da fare e si basa sulla presenza di autoanticorpi circolanti ed esclusione di altre patologie epatiche (es. virus HCV, HBV, virus Epstein-Barr, Cytomegalovirus, emocromatosi, Morbo di Wilson, cirrosi biliare primitiva, steatoepatite alcolica, deficienza da alfa 1-antitripsina, ecc.).

La malattia colpisce soprattutto le donne (71%), in genere prima dei 40 anni.

Si è soliti classificare l'epatite autoimmune, sulla base del riscontro degli autoanticorpi, in:

- epatite autoimmune di tipo I, caratterizzata massimamente dagli ANA (anticorpi anti-nucleo) e ASMA (anticorpi anti-muscolo liscio);
- epatite autoimmune di tipo II, dove gli anticorpi presenti sono i LKM1 (anticorpi anti-microsomi-1 di fegato e rene) e anticorpi anti-citosol-1 epatico (anti-LC1), che non coesistono con i primi citati e si associano a patologie come la tiroidite autoimmune, vitiligine, diabete insulino-dipendente e colite ulcerosa;
- epatite autoimmune di tipo III, caratterizzata dagli anticorpi anti-SLA (anticorpi anti-antigene solubile del fegato) .

L'epatite di tipo I colpisce tutte le età con prevalenza delle donne (1:3), quella di tipo II, più rara e severa, è frequente nei bambini, negli adolescenti e nei giovani con un rapporto fra maschi e femmine di 1:20. La storia di precedenti malattie autoimmuni, come tiroidite, artrite reumatoide, anemia emolitica autoimmune, retticolite ulcerosa, glomerulo nefrite membranoproliferativa ed diabete mellito giovane, aumenta la probabilità di malattia.

I criteri diagnostici per l'epatite autoimmune sono un rialzo delle transaminasi, delle immunoglobuline > di 1,5 volte rispetto al limite superiore della norma e i titoli sierici di ASMA, ANA e LKM1 > 1:80. Gli anticorpi anti-muscolo liscio riflettono la presenza di anticorpi diretti contro l'actina, la tubulina, la vimentina, la desmina e la scheletina. Gli anticorpi anti-microsomi del fegato/rene di tipo 1 sono reattivi contro l'antigene microsomiale di 50 kDa del fegato e del rene identificato come la citocromossigenasi P450 IID6. Altri tipi di anticorpi riscontrati sono quelli diretti contro fegato e pancreas (anti-LP) e contro le asialoglicoproteine (anti-ASGPR) e gli anticorpi citoplasmatici anti-neutrofili (pANCA) che sono stati riscontrati specialmente nella colangite sclerosante.

La tecnica di indagine usata per la rivelazione degli autoanticorpi è l'immunofluorescenza indiretta (IFI) che permette di rilevare tutti gli autoanticorpi epatici, esclusi gli anti-SLA e gli anti-ASGPR.

L'IFI necessita, comunque, di tecniche complementari, come elisa, western blot, immunoblot, ecc, per individuare meglio la specificità autoanticorpale.

## **II Parte. DIAGNOSTICA STRUMENTALE**

Le malattie del fegato presentano un ampio spettro di gravità e di sintomatologia, senza una stretta correlazione tra le due. Gli esami di laboratorio, poco costosi e poco invasivi per il paziente, mantengono un ruolo diagnostico insostituibile in una prima valutazione del tipo di epatopatia, nella stima della gravità della lesione interessante l'epatocita e di una possibile evoluzione, e rappresentano l'ideale per il monitoraggio del suo andamento e dell'efficacia della terapia instaurata. Tuttavia, il laboratorio in alcune situazioni è di scarsa utilità. L'imaging e la biopsia epatica rappresentano, pertanto, un punto chiave nel completamento di un corretto approccio diagnostico. L'ecografia, grazie alla sua non-invasività e diffusione, risulta essere la prima indagine eseguita in caso di sospetto di problema epatico, riservando alle altre metodiche le eventuali fasi successive. Ciononostante le tecniche invasive possono essere ancora indispensabili in molte situazioni. È ovvio che le informazioni desumibili con le differenti tecniche devono essere poi utilizzate in modo interattivo per poter ottenere la corretta diagnosi.

### **1. DIAGNOSTICA PER IMMAGINI DEL FEGATO**

Molti progressi sono stati compiuti nella diagnostica per immagini del fegato. Le tecniche di imaging più frequentemente utilizzate e complementari tra loro sono l'ecografia, la tomografia computerizzata (TC) e la risonanza magnetica (RM).

#### **1.a. Ecografia**

L'ecografia ha un ruolo sicuramente importante per la diagnosi e il follow up delle epatopatie se opportunamente correlate al contesto clinico, ossia alle informazioni anamnestiche, obiettive e di laboratorio, in assenza delle quali essa mostra una limitata accuratezza diagnostica, soprattutto nelle fasi meno avanzate di malattia. Clinicamente contestualizzata, l'ecografia svolge il ruolo di metodica di primo livello nella diagnostica delle epatopatie diffuse, potendo evidenziare aspetti di steatosi, di progressione da epatite cronica a cirrosi e sue complicanze, quali ascite, ipertensione portale ed epatocarcinoma.

In ambito epatologico, l'esame ecografico prevede una metodologia volta a valutare una serie di parametri eco-semiologici, alla ricerca di segni ecografici di malattia, sia epatici che extraepatici. In particolare, lo studio ecografico del fegato comprende la valutazione di:

- volumetria;
- angoli marginali;
- contorni;
- eco struttura parenchimale;
- vasi;
- vie biliari;
- colecisti.

Tale studio deve essere poi completato con l'esame della milza e del circolo spleno-mesenterico-portale, integrato dall'analisi eco-color-Doppler dei vasi venosi e arteriosi epatici e splenici.

Altresì, deve essere valutata l'entità del grasso viscerale e l'eventuale presenza di ascite, di circoli collaterali venosi e di linfadenopatia del legamento epatoduodenale.

La dipendenza dalle capacità di chi esegue l'esame e dalle caratteristiche del paziente rendono l'esame non sempre attendibile. È comunque un'ottima guida per la sottrazione di liquido dall'addome, per la biopsia del fegato e per i trattamenti locali dei tumori. È inoltre l'indagine da utilizzare per i controlli periodici dei malati affetti cirrosi epatica.

L'ecografia è l'indagine più importante nella diagnosi di steatosi epatica non alcolica (*non alcoholic fatty liver disease – NALFD*).

La NALFD consiste in un accumulo di grasso, principalmente sotto forma di trigliceridi, in una quantità superiore al 5% del peso del fegato, in presenza o assenza di un consumo insignificante di alcol. La steatosi epatica non alcolica può essere primaria (da insulino-resistenza) o secondaria (dovuta a malnutrizione, digiuno, nutrizione parenterale, patologie eredo-metaboliche, come abetalipoproteinemia, ipobetalipoproteinemia, malattia di Wilson, diabete, obesità, ecc, farmaci, come amiodarone, tamoxifene, metotrexate, ecc, sostanze tossiche come fosforo, solventi organici, cocaina, malattie infiammatorie intestinali, celiachia, diverticolosi, virus, procedure chirurgiche, ecc). L'associazione di una steatosi epatica con lesioni istologiche caratterizzate da flogosi, necrosi e fibrosi d'intensità variabile (fino alla cirrosi) realizza il quadro, più grave, definito della steatoepatite non alcolica (*non alcoholic steatohepatitis – NASH*): le lesioni sono simili a quelle della malattia alcolica del fegato ma si presentano in assenza di un consumo eccessivo di alcol.

Dal punto di vista biochimico, la steatosi epatica è generalmente caratterizzata da un'alterata distribuzione dei grassi (obesità viscerale o intraddominale), ipertrigliceridemia, ipercolesterolemia



e incremento delle LDL (fenomeni dovuti a un eccessivo apporto di grassi o a un'insufficiente consumo nella loro beta-ossidazione mitocondriale), diabete di tipo 2, ipertensione arteriosa, resistenza dei tessuti periferici all'insulina. Dal punto di vista istologico, si caratterizza per la presenza di micro- e/o macro-vescicole di lipidi nel citoplasma degli epatociti.

Perché possa essere posta la diagnosi di NASH, la steatosi deve interessare almeno il 10% degli epatociti; a livello istologico ci deve essere evidenza di necrosi balloniforme o acidofila, di un infiltrato di cellule mononucleate e neutrofili, e di lipogranulomi.

A livello ecografico i vacuoli lipidici creano numerose interfacce riflettenti per gli ultrasuoni, producendo il quadro ecografico tipico del fegato steatosico: il "bright liver" o fegato brillante, caratterizzato da echi fini, molto intensi e fittamente stipati, con ecogenicità del parenchima epatico superiore. La superficie dell'organo è di solito regolare, gli angoli marginali sono arrotondati e il volume è nella maggior parte dei casi aumentato. Va comunque ricordato che l'ecografia non è in grado di discriminare i pazienti con steato-epatite da quelli con steatosi senza flogosi e che questo limite vale per tutte le metodiche di imaging. Anche la differenziazione tra una steatosi di origine metabolica e una di altra eziologia, come per esempio da HCV o autoimmune, non è possibile.

### **1.b. Tomografia computerizzata (TC)**

La TC è considerata la tecnica di seconda istanza, dopo l'ecografia. L'impiego di mezzi di contrasto e l'acquisizione di immagini nella fase arteriosa, portale e tardiva consente di studiare la struttura epatica, le caratteristiche dei vasi e di identificare e caratterizzare le lesioni nodulari. In genere, insieme all'ecografia, ha un'elevata sensibilità per la dilatazione delle vie biliari ed è considerata l'indagine di prima scelta nella valutazione di un soggetto con sospetto di ittero colestatico. Come l'ecografia è in grado di individuare le steatosi del fegato, che appare anche qui brillante.

L'impiego è tuttavia limitato dall'inevitabile esposizione ai raggi X, dai potenziali effetti negativi dei mezzi di contrasto e dai costi. La TC non è quindi un test di routine per i pazienti con malattie del fegato ed è utilizzata quando altre tecniche, come la RMN, non sono disponibili o dirimenti per la diagnosi.

### **1.c. Risonanza Magnetica Nucleare (RMN)**

La RMN può essere considerata un'integrazione delle precedenti. La disponibilità di moderni mezzi di contrasto e di apparecchiature ad alta intensità di campo, con riduzione dei tempi di acquisizione, rendono la RMN la metodica più accurata per lo studio del fegato, del sistema biliare, dei vasi e delle lesioni focali. L'indagine è limitata dalla presenza di parti metalliche o pacemaker nell'organismo del paziente e dal fatto che, in alcuni casi, lo stretto tunnel circondato da magneti dell'apparecchiatura crea ansia nei pazienti claustrofobici.

La TC e la RM sono indicate per l'identificazione e la valutazione di masse epatiche, la stadiazione dei tumori epatici e la valutazione preoperatoria.

### **1.d. Colangiopancreatografia associata a RM (MRCP) e Colangiopancreatografia retrograda endoscopica (CPRE)**

La MRCP è l'esame di scelta per lo studio delle vie biliari e del dotto pancreatico. Riconosce la presenza di calcoli o ostruzioni tumorali delle vie biliari, del coledoco e del pancreas.

La CPRE è una tecnica diagnostica e terapeutica, endoscopica, utilizzata per indagare le vie biliari e quelle pancreatiche. L'indagine è eseguita con una sonda che, attraverso la bocca, raggiunge il duodeno. È possibile quindi accedere, con particolari strumenti e attraverso la papilla di Vater, alle vie biliari e al dotto pancreatico di Wirsung. Dopo aver allargato l'orifizio della papilla è possibile rimuovere calcoli, dilatare restringimenti (stenosi) e inserire protesi biliari o pancreatiche per consentire un miglior deflusso della bile o delle secrezioni del pancreas. Tale esame viene eseguito con il paziente addormentato e assistito dall'anestesista; possono seguire complicanze, rare ma gravi, costituite da dolore, perforazione, emorragia e pancreatite.

La MRCP presenta alcuni vantaggi rispetto alla CPRE: non necessita di mezzo di contrasto o radiazioni ionizzanti, le immagini possono essere rapidamente acquisite, è meno operatore-dipendente e non è associata a rischio di pancreatite. La MRCP è inoltre superiore all'ecografia e alla TC per l'individuazione della litiasi coledocica, ma è meno specifica. È utile nella diagnosi di ostruzione dei dotti biliari e in quella delle anomalie congenite del tratto biliare, mentre la CPRE è più utile nella valutazione delle lesioni della papilla e della colangite sclerosante primitiva. La CPRE permette di prelevare materiale bioptico, l'estrazione di calcoli e il posizionamento di cateteri naso-biliari o di stent.

### **1.e. Elastografia epatica e Fibroscan**

La sensibilità delle tecniche di diagnostica per immagini nell'identificare lesioni focali epatiche continua a migliorare; sfortunatamente, però, la specificità di queste tecniche resta relativamente bassa e di solito sono necessari due o tre esami per giungere alla diagnosi conclusiva.

Recentemente sono state sviluppate tecniche per valutare la fibrosi epatica tramite l'elastografia epatica, che fornisce una stima della rigidità del fegato. Sono in corso studi volti a valutare la capacità dell'elastografia ultrasonografica di differenziare i diversi stadi fibrosi, in modo da ovviare alla necessità della biopsia epatica per la stadiazione della malattia. Se tale tecnica verrà ritenuta affidabile, potrà diventare un mezzo appropriato per monitorare la fibrosi e l'evoluzione delle epatopatie.

Il fibroscan è il sistema di misurazione della rigidità del tessuto epatico che utilizza come tecnica l'elastografia a impulsi. In pratica, con uno strumento dedicato, si crea un'onda di vibrazione che si propaga attraverso il fegato, consentendo di misurarne l'elasticità. Il risultato è riproducibile e può essere ripetuto nel tempo senza danni per il paziente. Questo esame ha il vantaggio di non procurare dolore, di essere rapido e non invasivo, al contrario della biopsia che però fornisce una diagnosi più precisa e informazioni sull'infiammazione che il fibroscan non rileva. Le limitazioni del fibroscan sono legate al fatto che lo strumento non è ancora molto diffuso e che è mal utilizzabile nei pazienti obesi.

## **2. BIOPSIA EPATICA**

La biopsia epatica consiste nel prelevare un piccolo frammento di tessuto e nell'esaminarlo al microscopio dopo opportuni trattamenti e colorazioni. Nonostante il ruolo fondamentale delle indagini di laboratorio e strumentali finora descritte, la biopsia epatica rimane il metodo migliore di riferimento per la diagnosi di malattie del fegato ed è in genere l'ultimo stadio del percorso diagnostico proposto dal medico per le epatopatie.

La biopsia consente di formulare una diagnosi precisa e di chiarire eventuali dubbi sulla natura della malattia; fornisce dati importanti per giudicare la gravità della patologia e in qualche modo prevederne anche l'evoluzione.

In genere è impiegata per le malattie croniche che hanno varia origine e che sono causate da infiammazione del fegato che si associa ed evolve in fibrosi.

La metodica, pur essendo invasiva, comporta un rischio abbastanza basso di complicanze. Il paziente non deve avere un numero ridotto di piastrine e l'attività di protrombina deve essere normale. La biopsia è sconsigliata quando nell'addome è presente liquido (ascite) o il paziente lamenta dolore addominale per malattie della colecisti, pancreatite o occlusione intestinale.

Fra le complicanze della biopsia sono stati descritti l'emoperitoneo, la peritonite biliare, emotorace, pneumotorace, sanguinamento all'interno del fegato, perforazione di altri organi e dolore. Il rischio di morte è molto basso e inferiore allo 0,01%.

Oggi le complicanze sono molto rare, grazie all'introduzione della biopsia epatica eseguita con guida ecografica e di nuovi aghi di minore calibro e meno traumatici rispetto al passato. La biopsia non determina alcuna modificazione del fegato e non influisce sul decorso della malattia.

### **III Parte. NUOVI TEST DIAGNOSTICI**

Sebbene la biopsia epatica sia sempre stata considerata il gold standard nella valutazione di NAFDL, NASH e fibrosi, nel determinare le caratteristiche istologiche del fegato e, quindi, stimare l'entità del danno epatico, questa procedura presenta alcuni inconvenienti:

- è invasiva;
- è incline a complicanze che possono andare da quelle minori (fino al 30% dei casi riferisce dolore) fino a quelle severe (inclusa la morte in circa lo 0,03% dei casi);
- vi è una considerevole variabilità nel campionamento bioptico (fino al 40% per la stadiazione della fibrosi);
- vi è una elevata variabilità inter- e intra- anatomopatologi;
- è richiesta una ospedalizzazione di 6-18 ore;
- il costo medio della procedura (senza complicanze) è di circa 650 euro.

Numerosi studi indicano che a causa dei limiti e dei rischi della biopsia e grazie al miglioramento dell'accuratezza diagnostica dei marcatori sierici, la biopsia epatica non deve più essere considerata obbligatoria.

Pertanto, sono stati introdotti dei metodi innovativi per la diagnosi e la stadiazione delle epatopatie più comuni:

- Fibro Test: diagnostica la fibrosi epatica;
- Steato Test: diagnostica la steatosi epatica;
- Acti Test: determina l'attività necro-infiammatoria virale;
- Ash Test: diagnostica la steatoepatite alcolica (ASH) severa nell'abuso alcolico;
- Nash Test: diagnostica la steatoepatite non alcolica (NASH) nei pazienti in sovrappeso, diabetici, dislipidemic, con insulino resistenza.

Per Fibromax si intende la combinazione dei suddetti test sierologici non invasivi (cioè ricavabili semplicemente da un prelievo ematico) che, attraverso un algoritmo basato su alcuni parametri del paziente, quali sesso, età, peso, altezza e biomarcatori sierici specifici ( $\alpha$ -2macroglobulina, aptoglobina, apolipoproteina A1, bilirubina totale, GGT, AST, ALT, glicemia a digiuno, trigliceridi, colesterolo totale), predice la possibilità che un'alterazione cronica a livello

epatico abbia già determinato un'evoluzione fibrotica (e in quale stadio) e quindi nel tempo possa evolvere in cirrosi.

In questo modo si ottiene un'indicazione prognostica e un'eventuale indicazione per esami di approfondimento anche invasivi. Il test viene oggi paragonato con la biopsia epatica e con il Fibroscan che scandaglia il fegato con onde elastiche e fornisce un'analogia stadiazione della fibrosi epatica. Il test è il più diffuso oggi tra gli epatologi francesi, anche se a livello internazionale non è ancora, per ora, raccomandato nelle Linee Guida.

E' chiaro che questo test non può sostituire la biopsia epatica a fini medico-legali quando si debbono compiere scelte terapeutiche decisive per il paziente. Però può essere utile in via preliminare nei soggetti con alterazioni epatiche lievi, ma prolungate, che non vogliano sottoporsi all'esame invasivo; inoltre può essere utile al fine di contenere sia il numero di biopsie epatiche il cui numero difficilmente, per motivi logistici, potrebbe essere adeguato alle reali indicazioni cliniche e le cui possibili complicanze aumenterebbero certamente in numero assoluto, estendendo l'indicazione rispetto a quanto fatto realmente nella pratica clinica finora, sia le campionature bioptiche insoddisfacenti per qualità. D'altra parte il Fibroscan, oltre che essere ancora quasi sconosciuto alla classe medica, non è diffuso fuori dai centri di terzo livello (mentre un prelievo ematico per il test Fibromax è possibile anche nei laboratori più periferici) e inoltre ha come principale limitazione la presenza di adipe addominale, evento molto frequente soprattutto nei pazienti con sospetta steatoepatite.

La possibilità che il Fibromax o alcune parti del test (Fibro Test, Acti Test, Nash Test) possano affermarsi nella routine clinica come esame preliminare di screening nei pazienti con iniziale epatite cronica A, B e C, steatosi epatica, sindrome metabolica, diabete, dislipidemia severa, alterazioni croniche delle transaminasi o della GGT senza colestasi extraepatica o obesità, prima di eseguire un Fibroscan di conferma e un'eventuale successiva biopsia epatica (solo in caso di fibrosi dello stadio 2 Metavir), è assolutamente realistica per quanto non ancora contemplata nelle raccomandazioni.

Gli algoritmi del Fibromax sono stati scientificamente validati e sottoposti a standardizzazione analitica al fine di assicurare che i risultati forniti siano al massimo livello di affidabilità e accuratezza.

Questi test possono essere ripetuti ogni qualvolta sia necessario a seconda del profilo clinico del paziente e della severità dell'epatopatia.

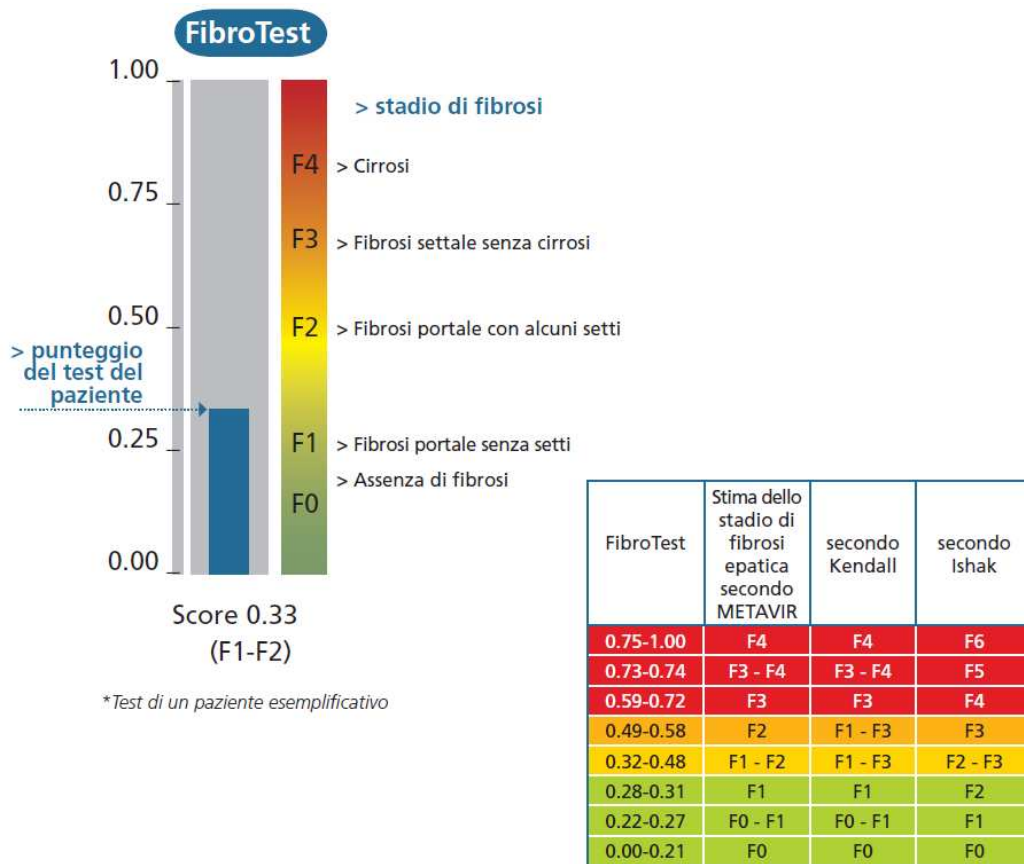


Figura 2. Come interpretare i risultati di un Fibro Test.

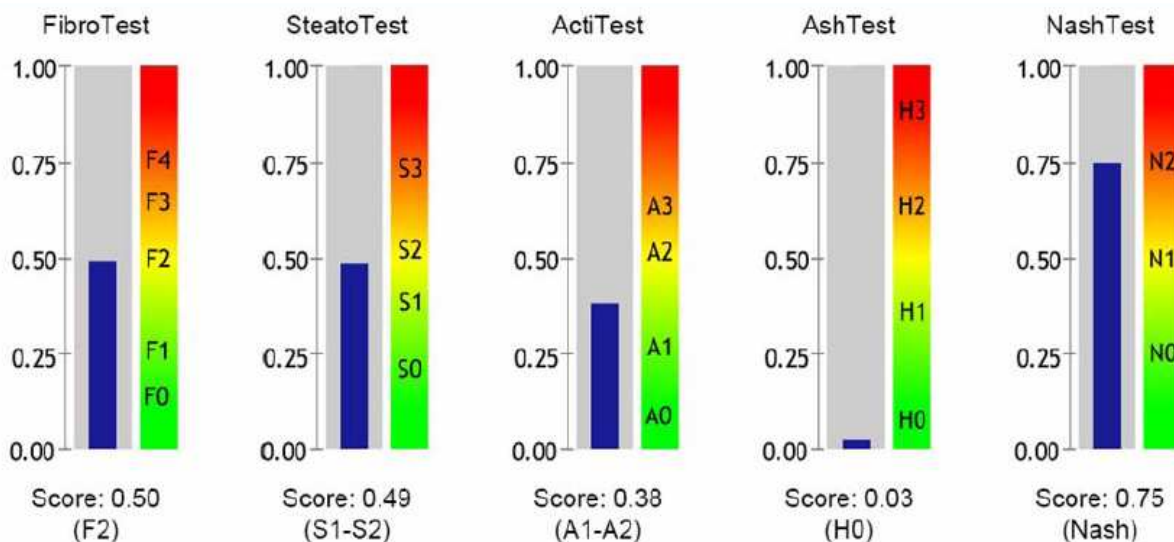


Figura 3. Esempio di risultati dei biomarcatori non invasivi.

L'affidabilità di questi test innovativi è legata al rispetto delle condizioni preanalitiche e analitiche raccomandate. L'esecuzione dei test deve essere rinviata in caso di emolisi acuta, epatite acuta, infiammazione acuta e colestasi extra-epatica. L'interpretazione dei test non è validata nei pazienti trapiantati di fegato.

I nuovi biomarcatori non invasivi per le epatopatie permettono inoltre una migliore gestione del paziente.

Come per le epatiti virali, il numero di pazienti a rischio di epatite metabolica e di epatopatia alcolica è sufficientemente elevato da far sì che la biopsia epatica non sia uno strumento né pratico né efficiente per identificare i soggetti a rischio di fibrosi avanzata. Sulla base di questi test e considerando i limiti dei marcatori non invasivi, la prevalenza di fibrosi, steatosi e NASH in pazienti iperlipidemici sembra essere elevata (3%, 30% e 7% rispettivamente) in studi cross-sectional. Uno studio suggerisce che i biomarcatori possono essere molto utili per lo screening della fibrosi avanzata e della NASH in pazienti con alcuni fattori della sindrome metabolica severa per prevenirne la mortalità.

Un altro studio suggerisce inoltre che i biomarcatori non invasivi possano essere molto utili per identificare la fibrosi epatica avanzata e i suoi fattori aggravanti (steatosi e NASH) in pazienti diabetici con oltre 45 anni di età, prevenendo pertanto la mortalità correlata al fegato.

Tali test hanno il vantaggio di essere semplici, convenienti e con un buon rapporto costo-beneficio.

Per concludere, sullo stesso principio del Fibromax è stato introdotto un altro test non invasivo, detto Fatty Liver Index (FLI) che usa un algoritmo basato sui valori di indice di massa corporea, circonferenza addominale, trigliceridi, GGT, GOT, GPT, colesterolo totale, HDL, LDL, calcolabile direttamente online, in grado di identificare il fegato grasso con un'accuratezza del 95%.

Se  $FLI > 60$  c'è oltre l'85% di possibilità di avere NAFLD, se  $FLI < 30$  c'è oltre 86% possibilità di non avere NAFLD. Anche per il FLI valgono le stesse considerazioni fatte per i test precedenti.



## CONCLUSIONI

Le malattie epatiche costituiscono ancora un problema nella pratica clinica quotidiana. Sebbene lo screening per le epatopatie non sia consigliato, la loro presenza è spesso avvertita solo dopo l'esecuzione di test ematici di routine in quanto si tratta di patologie generalmente asintomatiche: è frequente, infatti, il riscontro casuale di alterazione dei markers biochimici durante esami eseguiti per la donazione del sangue, per esami pre-assunzione, per attività sportiva, ecc.

Le raccomandazioni e gli algoritmi diagnostico-terapeutici che ne seguono hanno il compito di razionalizzare la scelta dei test ematici e degli esami strumentali per giungere a una diagnosi eziologica e a una conseguente scelta terapeutica appropriata.

Il trattamento della patologia epatica è profondamente cambiato negli ultimi anni. Lo sviluppo di nuove terapie e l'integrazione sempre più estesa dei vari trattamenti rende necessario studiare e caratterizzare tali patologie in modo preciso alla diagnosi e valutare con accuratezza e tempestività l'efficacia del trattamento. I marcatori biochimici sono in tal senso di utile impiego nei pazienti affetti da patologia epatica. Le tecniche di diagnostica per immagini poi sono strettamente correlate alle informazioni ottenibili con il dosaggio dei markers epatici. È opportuno infatti sottolineare che il corretto uso diagnostico delle tecniche strumentali non possa prescindere da un'integrazione reciproca tra ipotesi cliniche e aspetti diagnostici: questi ultimi possono influenzare positivamente o negativamente le prime, confermandole o generando nuove ipotesi diagnostiche, lasciando spazio ad altre metodiche nei casi ancora dubbi.

L'integrazione fra metodiche di imaging e il dosaggio di markers di epatopatia è dunque di grande utilità in epatologia, in quanto aiutano il medico nella gestione del singolo paziente e determinando spesso, per alcune patologie, un'anticipazione diagnostica.

## **BIBLIOGRAFIA**

Giorgio Bedogni, Stefano Bellentani, Lucia Miglioli, Flora Masutti, Marilena Passalacqua, Anna Castiglione and Claudio Tiribelli The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterology* 2006, 6:33.

Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S: Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 2005, 42:44-52.

Bellentani S, Bedogni G, Miglioli L, Tiribelli C: The epidemiology of fatty liver. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004, 16:1087-1093.

Bedogni G, Bellentani S: Fatty liver: how frequent is it and why? *Ann Hepatol* 2004, 3:63-65.

Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH: Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003, 37:1202-1219.

Angulo P: Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002, 346:1221-1231.

Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Crocè LS, Brandi G, Sasso F, Cristianini G, Tiribelli C: Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med* 2000, 132:112-117.

Bellentani S, Tiribelli C: The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol* 2001, 35:531-537.

Bedogni G, Pietrobelli A, Heymsfield SB, Borghi A, Manzieri AM, Morini P, Battistini N, Salvioli G: Is body mass index a measure of adiposity in elderly women? *Obes Res* 2001, 9:17-20.

Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G: Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology* 2005, 42:987-1000.

Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, Sodde M, Fratti N, De Martin C, Cristianini G: Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos Study. *Hepatology* 1994, 20:1442-1449.

Bellentani S, Pozzato G, Saccoccio G, Crovatto M, Crocè LS, Mazzoran L, Masutti F, Cristianini G, Tiribelli C: Clinical course and risk factors of hepatitis C virus related liver disease in the general population: report from the Dionysos Study. *Gut* 1999, 44:874-880.

Durnin JV, Womersley J: Total body fat, calculated from body density, and its relationship to skinfold thickness in 571 people aged 12–72 years. *Proc Nutr Soc* 1973, 32:45.

Willett W: *Nutritional epidemiology*. New York: Oxford University Press; 1998.

MacDonald I: *Health issues related to alcohol consumption*. ILSI Press; 1993.

Farin HM, Abbasi F, Reaven GM: Body mass index and waist circumference correlate to the same degree with insulin-mediated glucose uptake. *Metabolism* 2005, 54:1323-1328.

Reaven GM: The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr* 2006, 83:1237-1247.

Ratziu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, Tahiri M, Munteanu M, Thabut D, Cadranel JF, Le Bail B, de Ledinghen V, Poynard T, LIDO Study Group, CYTOL study group: Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol* 2006, 6:6.

Poynard T, Ratziu V, Naveau S, Thabut D, Charlotte F, Messous D, Capron D, Abella A, Massard J, Ngo Y, Munteanu M, Mercadier A, Manns M, Albrecht J: The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comp Hepatol* 2005, 4:10.

Kushner RF, Blatner DJ: Risk assessment of the overweight and obese patient. *J Am Diet Assoc* 2005, 105:S53-S62.

Bayard M, Holt J, Boroughs E: Nonalcoholic fatty liver disease. *Am Fam Physician* 2006, 73:1961-1968.

Marchesini G, Natale S, Manini R, Agostini F: Review article: the treatment of fatty liver disease associated with the metabolic syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2005, 22(Suppl 2):37-39.

Comar KM, Sterling RK: Review article: Drug therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006, 23:207-215.

Angulo et al. Independent predictors of liver fibrosis in patients with NASH. *Hepatology*.2000; 30: 1356-1362.

Poynard T et al.: Overview of diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comparative Hepatology* 2004; 3: 8.

Ratziu V et al: Screening for advanced fibrosis using non-invasive biomarkers (FibroTest-FIBROSURET) in patients consulting for hyperlipidemia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006.

S. Jacqueminet et al: Efficacy of screening for advanced fibrosis (AF) using non-invasive biomarkers (FibroTest-FibroSURE) in Diabetic Patients: *J. Hepatol.* 2006; 44: S260.

Imbert-Bismut F et al.: Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection : a prospective study, *Lancet* 2001; 357: 1069-75.

Thierry Poynard, Hepatitis C and B: Management and Treatment. Second Addition. Published by the Taylor and Francis Ed 2004.

Poynard T et al; The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comp Hepatol.* 2005; 4: 10.

Poynard T et al; Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol.* 2006; 6: 34.

Thabut D et al.; The diagnostic value of biomarkers (AshTest) for the prediction of alcoholic steato-hepatitis in patients with chronic alcoholic liver disease. *J Hepatol.* 2006; 44: 1175-85.

Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. *Semin Liver Dis* 2001, 21: 3-16

Reid A.E.. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2001, 121: 710.

Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ. Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Sem Liver Dis*, 2001, 21: 17-26.

Marchesini G, Manini R, Natale S, Chierici S. *Hepatology Review* 2002 1: 40.

Bellentani S, Miglioli L, Bedogni G. Steatosi epatica: epidemiologia. Abstract book 2° Workshop "Hot topics in Hepatology": La steatosi epatica nella epatite cronica da virus C, Modena 2005, 225-28.

Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Non alcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology* 2003, 37: 1202-1209.

Bellentani S., Bedogni G., Miglioli L., Tiribelli C. The epidemiology of fatty liver. *Eur J Gastroenterol* 2004, 16 (11): 1087-1094.

Ludwig J., Viaggiano TR., McGill DB., Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980, 55: 434-438.

Bugianesi E., Vanni E. La steatoepatite non alcolica (NASH): storia naturale. *Hepatology review* 2002, 1: 11-21.

Sanyal AJ. Technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2002, 123: 1705-1725.

Larrey D. Stéato-hépatite non alcoolique: histoire naturelle et diagnostic. *Gastroenterol Clin Biol* 2003, 27: 795.

Wanless IR., Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990, 12: 1106-1110.

El-Hassan AY, Ibrahim EM, Al Mulhim FA, et al. Fatty infiltration of the liver: analysis of prevalence, radiological e clinic features and influence on patients managements. *Br J Radiol* 1992, 65: 774-778.

Byron D, Minuk G. Clinical hepatology: profile of an urban, hospital-based practice. *Hepatology* 1996, 24: 813-815.

La steatosi epatica non alcoolica Documento redatto dal Dr. Piero Casarin (3<sup>^</sup> U.O. di Medicina Interna PN/ Dip.di Medicina Specialistica/ Dir. Dott. Valter Donadon) gennaio 2007 per la Rete epatologica FVG 28.

Nonomura A, Mizukami Y, Unoura M, Kobayashi K, Takeda Y, Takeda R. Clinic pathologic study of alcohol-like liver disease in non alcoholics; non alcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Gastroenterol Jpn* 1992, 27: 521-528.

Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, Sodde M, Fratti N, De Martin C, Cristianini G et al. Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos Study . *Hepatology* 1994, 20: 1442-1449.

Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999, 30: 1356-1362.

Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boporai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999, 116: 1413-1419.

Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Brizi M, Morselli-Labate AM, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003, 37: 132: 112-117

Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults –the evidence report. National Institutes of Health. *Obes Res* 1998, 2 (suppl 6): 51S-209.

Kral J, Schaffner F, Pierson R, Wang J. Body fat topography a san independent predictor of fatty liver. *Metabolism* 1993, 42: 548-551.

Matsuzawa Y, Shimomura I, Nakamura T, Keno Y, Totani K, Tokunaga K. Pathophysiology and pathogenesis of visceral fat obesity. *Obes Res* 1995, 3 (suppl 2): 187S-194S.

Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow up study forty –two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990, 11: 74-80.

Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel in detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adult (Adult Treatment Panel III): final report. *Circulation* 2002, 106: 3143-3421.

Abate N, Garg A. Heterogeneity in adipose tissue metabolism: causes, implications and management of regional adiposity. *Prog Lipid Res* 1995, 34: 53-70.

Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: An expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107:1103-1109.

Lahmek P, Nahon S. Stéatopathies hépatiques non alcooliques. EMC (Elsevier SAS, Paris), Hépatologie 7- 040-B-10, 2005.

Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: tightening the morphological screws on a hepatic rambler.

*Hepatology* 1995, 21: 1742-1743.

Benhamou JP. Stéatose hépatique. In Benhamou JP, Erlinger S, Editors. *Maladies du foie et des voies biliaires*. Paris: Médecine-Sciences Flammarion; 2000, p. 64-67.

Brunt EM. Nonalcoholic Steatohepatitis: definition and pathology. *Semin Liver Dis* 2001, 21: 3-16.

Burt AD, Mutton A, Day C. Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. *Semin Diagn Pathol* 1998, 15: 246-258.

Diehl AM, Goodman Z, Ishak KG. Alcoholic disease in nonalcoholics. A clinical histologic comparison with alcohol-induced liver injury. *Gastroenterology* 1988, 95:1056-1062.

Cortez-Pinto HC, Baptista A, Camino ME, Valente A, Saragoca A, Carneiro de Moura M. Nonalcoholic steatohepatitis: clinicopathologic comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients. *Dig Dis Sci* 1996, 41: 172-179.

Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 2005, 42: 132-138.

George DK, Goldwurm S, McDonald GA, Cowley LL, Walzer NI, Ward PJ, Jazwinska EC, Powell LW. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology* 1998, 114: 3111-3118

Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999, 94 (9): 2467-2474

Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC,

Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ. Nonalcoholic steatohepatitis clinical research Network. *Hepatology* 2005, 41 (6), 1313-1321

Teli MR, James OF, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology* 1995, 22:1714-1719

Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a clinical histopathologic study. *Am J Gastroenterol* 2003, 98: 2042-2047

La steatosi epatica non alcoolica Documento redatto dal Dr. Piero Casarin (3<sup>a</sup> U.O. di Medicina Interna PN/ Dip.di Medicina Specialistica/ Dir. Dott. Valter Donadon) gennaio 2007 per la Rete epatologica FVG 30

Fassio E, Alvarez E, Dominguez N, et Al. Natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a longitudinal study of repeat liver biopsies. *Hepatology* 2004, 40: 620-626

Silverman JF, O'Brien KF, Long S et Al. Liver pathology in morbidly obese patients with and without diabetes. *Am J Gastroenterol* 1990, 85: 1349-1355

Marceau P, Biron S, Hould FS et Al. liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999, 84:1513-1517

Lonardo A, Loria P. Storia naturale della patologia epatosteatosica nonalcolica. Abstract book 2°

Workshop “Hot topics in Hepatology”: La steatosi epatica nella epatite cronica da virus C, Modena 2005, 29-34

Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2004, 40: 578-584

Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespeneide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999, 29: 664-669

Lonardo A, Bagni A, Tarugi P et Al. The wide spectrum of steatohepatitis: a report of four cases and a review of the literature. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004, 16: 1043-1050

Struben VM, Hespeneide EE, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis and cryptogenic cirrhosis within kindreds. *Am J Gastroenterol* 2004, 99:292-298

Brownig JD, Kumar KS, Saboorian MH, et Al. Ethnic differences in the prevalence of the cryptogenic cirrhosis. *Gastroenterology* 1999, 116: 1413-1419

Charlton M, Kasparova P, Weston S, et Al. Frequency of nonalcoholic steatohepatitis as a cause of advanced liver disease. *Liver Transpl* 2001, 7: 608-614

Kooby DA, Suriawinata A, et Al. Impact of steatosis in perioperative outcome following hepatic resection. *J Gastrointest Surg* 2003, 7:1033-1034

Hui JM, Kench JG, Chitturi S, Sud A, et Al. Long-term outcomes on cirrhosis in alcoholic compared with hepatitis C. *Hepatology* 2003, 38: 420-427

Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, et Al. Survival liver failure and hepatocellular carcinoma on obesityrelated cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35: 1485-1493

Caldwell SH, Hespeneide EE. Subacute liver failure in obese women. *AM J Gastroenterol* 2002; 97: 2058-2062

Mori S, Yamasaki T, Sakaida I, et Al. HCC in patients with NASH and cirrhosis. *J Gastroenterol* 2004; 39: 391-396

Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G et Al. Expanding the natural history of non-alcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to the hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123: 134-140



Marrero JA, Fontana RJ, Su GL, et Al. NALFD may be uncommon underlying liver disease in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. *Hepatology* 2002; 36: 1349-1354

La steatosi epatica non alcoolica Documento redatto dal Dr. Piero Casarin (3<sup>^</sup> U.O. di Medicina Interna PN/ Dip.di Medicina Specialistica/ Dir. Dott. Valter Donadon)

gennaio 2007 per la Rete epatologica FVG 31

Coughlin SS, Calle EE, Teras LR, Petrelli J, Thun MJ. Diabetes mellitus as a predictor of cancer mortality in a large cohort of US adults. *Am J, Epidemiol* 2004; 159: 1160-1167

Verlato G, Bonora E, Zuppini G, Muggeo M. Mortality from site-specific malignancies in type 2 diabetics patients from Verona. *Diabetes Care* 2003; 26: 1047-1051

El Seragh HB, Tran T, Everarth JE. Diabetes increase the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 126: 460-468

El Seragh HB, Tran T, Everarth JE. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systemic review of epidemiological evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 369-380

Calle EE, Kaaks S, Calle EE. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat rev Cancer* 2004; 4: 579-591

Rosenfeld RG. Insulin-like growth factors and the basis of growth. *NEJM* 2003; 349: 2184-2186

Moirand R, Mortaji AM, Loreal O, Paillard F, Brossot P, Deugnier Y. A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. *The Lancet* 1997; 349: 95-97

Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N. Non alcoholic fatty liver disease. A feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50: 1844-1850

Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depris N, Cassader M, David E, Cavallo-Perin P, Rizzetto M. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance and metabolic syndrome: further evidence for an etiological association. *Hepatology* 2002; 35: 367-372

Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, et Al. Steatosis and Hepatitis C: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 586-597

Ortiz V, Berenguer M, Rayon JM, Carrasco D, Berenguer J. Contribution of obesity to hepatitis C-related fibrosis progression. *AM J Gastroenterol* 2002; 97: 2408-2414

Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for non response to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Gut* 2002; 51: 89-94

Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan T, Balan V, Diago M, Marcellin P et Al. Peginterferon alfa-2° (40kD) and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C : randomized study of the effect of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern med* 2004; 140: 346-355

Rashid M, Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 48-53

Ikai E, Ishizaki M, Suzuki Y, Ishida M, Noborizaka Y, Yamada Y. Association between hepatic steatosis, insulin resistance and hyperinsulinaemia as related to hypertension in alcohol consumers and obese people. *J Hum Hypertens* 1995; 9: 101-105

Seth SG, Gordon FD. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Int Med* 1997; 126:137-145

Diehl AM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Sem Liver Dis* 1999; 19: 221-229

La steatosi epatica non alcoolica Documento redatto dal Dr. Piero Casarin (3<sup>^</sup> U.O. di Medicina Interna PN/ Dip.di Medicina Specialistica/ Dir. Dott. Valter Donadon) gennaio 2007 per la Rete epatologica FVG 32

Bellentani S, Bedogni G, Miglioli L and Tiribelli C. The epidemiology of fatty liver. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16(11): 1087-1094

Fletcher LM, Kwoh-Gain I, Powell EE, Powell LW, Halliday JW. Markers of chronic alcohol ingestion in patients with alcoholic steatohepatitis: an aid to diagnosis. *Hepatology* 1991; 13: 455-459

Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic Va, et Al. Clinical and histological spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003; 37:1286-1292

Chan DF, Li AM, Chu WH, Chan MH, Wong EN, Liu EH, Chan IH, Yin J, Lam CW, Fok TF, Nelson EA. Hepatic steatosis in obese Chinese children. *Int J Obes Metab Disord* 2004; 28: 1257-1263

Grundy SM. Hypertriglyceridemia, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 1999; 13: 83(9B) 25F-29F

Argawal N, Shara BC. Insulin resistance and clinical aspects of non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2005; 33: 92-96

Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. Nash and insulin resistance: insulin hypersecretion and specific association with insulin resistance syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 497-499

Lonardo a, Bellini M, Tondelli E, Frazzoni M, Grisendi A, Pulvirenti M, Della Casa G. Nonalcoholic steatohepatitis and the "bright liver syndrome": should a recently expanded clinical entity be further expanded? *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 2072-2074

Jacobs JE, Birnbaum BA, Shapiro MA, LangLotz CP, Slosman F, Rubesin SE, et Al. Diagnostic criteria for fatty infiltration of the liver on contrast-enhanced helicalCT. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 171: 659-664

Fishbein MH, Gardner Kg, Potter CJ, Schmalbrock P, Smith MA. Introduction of fast MR imaging in the assessment of hepatic steatosis. *Magn Reson Imaging* 1997; 15: 287-293

Ludwig J, McGill DB, Lindor KD. Metabolic liver diseases. Review: nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: 398-403

Sorbi D, McGill DB, Thistle JL, Therneau TM, Henry J, Lindor KD. An assessment of the role of liver biopsies in asymptomatic patients with chronic liver test abnormalities. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3206-3210

Van Ness MM, Diehl AM. Is liver biopsy useful in the evaluation of patients with chronically elevated liver enzymes? *Ann Intern Med* 1989; 111: 473-478

Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, et Al. liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000; 118: 1117-1123

Ratziu V, Le Calvez S, Imbert-Bismuth F, Dessous D, Charlotte F, Bonyhay L, et Al. Valeur diagnostique des marqueurs biochimiques de fibrose (Fibrotest) au cours des stéatopathies non alcooliques. *Gastroenterol Clin Biol* 2004 ; 28 : A166 (abstract)

La steatosi epatica non alcoolica Documento redatto dal Dr. Piero Casarin (3<sup>^</sup> U.O. di Medicina Interna PN/ Dip.di Medicina Specialistica/ Dir. Dott. Valter Donadon) gennaio 2007 per la Rete epatologica FVG 33

Dixon JB, Bhatal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severy obese. *Gastroenterology* 2001; 121: 91-100

Lainé F, Bendavid C, Moirand R, Tessier S, Perrin M, Guillyomarc'h A, et Al. Prediction of liver fibrosis in patients with features of the metabolic syndrome regardless of alcohol consumption. *Hepatology* 2004; 39: 1639-1646

Forns X, Ampurdanès S, Llovet JM, Aponte J, Quintò L, Martinez-Bauer E, Bruguera M, Sanchez-Tapias JM, Rodes J. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis with a simple predictive model. *Hepatology* 2002; 36: 986-992

Wai C-T, Greenon JK, Fontana RJ, Kalbfleish JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok A S-F. A simple non-invasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C

Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus: a perspective study. *Lancet* 2001; 357: 1069-1075.

Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, De Lédinghen V, Marcellin P, et Al. Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement: a prospective multicentre study in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 48-54

Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castera L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, De Lédinghen. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (Fibroscan): a prospective study. *Gut* 2006 ; 55: 403-408

Gomez-Dominguez E, Mendoza J, Rubio S, Moreno-Monteagudo JA, Garcia-Buey L, Moreno-Otero R. Transient elastography: a valid alternative to biopsy in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 513-518

Caveau S, Giraud V, Borotto E, Aubert A, Capron F, Caput JC. Excess weight risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology* 1997; 25: 108-111

Doffoël M. Obésité et hépatopathies chroniques alcooliques et virales. *Gastroenterol Biol Clin* 2004; 28: 268-271

Monto A, Alonzo J, Watson JJ, Grundfeld C, Wright TL. Steatosis in chronic hepatitis C: relative contributions of obesity, diabetes mellitus, and alcohol. *Hepatology* 2002; 36: 729-736.

Muzzi A, Leandro G, Rubbia-Brandt L, James R, Kaiser O, Malinverni R, Dufour JF, Helbling B,

Hadengue A, Gonvers JJ, et Al. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2005; 42: 41-46

Rubbia-Brandt L, Giostra E, Menta G, Quadri R, Negro F. Expression of liver steatosis in hepatitis C virus infection and pattern of response to alpha-interferon. *J Hepatol* 2001; 35(2): 307

Mattehews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment : insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1986; 28: 412-419

Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. use and abuse of HOMA modelling. *Diabetes care* 2004; 27: 1487-1495

Reaven GM. Role of insulin-resistance in human disease. Banting Lecture 1988. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607

De Fronzo RA, Ferrarini E. Insulin-resistance. A multifaced syndrome responsabile for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; 14: 174-194

Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of Hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395

Joseph AEA, Dewbury KC, McGuire PS. Ultrasound in the detection of chronic liver disease ("The Bright liver"). *Br J Radiol* 1979; 52: 184-188

Giorgio A, Amoroso P, Fico P et Al. Ultrasound evaluation of uncomplicated and complicated acute viral hepatitis. *J Clin Ultrasound* 1986; 14: 675-679

Saverymuttu SH, Joseph AEA, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J* 1986; 292: 13-15

Sanford NL, Walsh P, Matis C, Baddeley H, Powell LH. Is ultrasonography useful in the assessment of diffuse parenchymal liver disease? *Gastroenterology* 1985; 89: 186-191

Giorgio A, Amoroso P, De Stefano G et Al. Ultrasonographic and histologic diagnosis of chronic liver disease. *Ital J Gastroenterol* 1987; 19: 269-273

Needlemann L, Kurtz AB, Rifkin MD, Cooper HS, Porto ME, Goldberg BB. Sonography of diffuse benign liver disease: accuracy of pattern recognition and grading. *AJR* 1986; 146: 1011-1015

Harrison - Principi di medicina interna, McGraw-Hill, 2007.

Panteghini. Interpretazione degli esami di laboratorio. Edizione Piccin, 2008.

Sabir N, Sermez Y, Kazil S, Zencir M. Correlation of abdominal fat accumulation and liver steatosis: importance of ultrasonographic and anthropometric measurements. *Eur J Ultrasound* 2001; 14: 121-128.

Bellentani S, Tiribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos Study. *J Hepatol* 2001; 35: 531-537.

Saverymattu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J* 1986; 292: 13-15.

# SOMMARIO

INTRODUZIONE.....	2
Struttura e funzioni del fegato .....	2
Malattie epatiche .....	4
I Parte. DIAGNOSTICA DI LABORATORIO .....	8
1. TEST DI PRIMO LIVELLO DI FUNZIONALITA' EPATICA .....	9
1.a. Valutazione della capacità di sintesi e di metabolismo del fegato .....	9
<i>Proteine plasmatiche</i> .....	9
<i>Pseudocolinesterasi o Colinesterasi (PCHE o CHE)</i> .....	11
<i>Fattori della coagulazione</i> .....	11
<i>Ammoniemia</i> .....	13
1.b. Test di escrezione .....	14
<i>Bilirubina</i> .....	14
1.c. Test di citolisi .....	17
Attività enzimatiche epatocitarie .....	17
<i>Enzimi sierici come indicatori di danno epatocellulare/necrosi</i> .....	17
<i>Enzimi che riflettono la colestasi</i> .....	18
2. TEST DI SECONDO LIVELLO DI FUNZIONALITA' EPATICA SPECIFICA.....	21
2.a. Capacità di eliminazione del galattosio .....	21
2.b. Test del respiro ("breath test").....	21
2.c. Clearance del verde di indocianina.....	22
2.d. Test di formazione del monoetilglicinaexilidide (MEGX).....	22
3. TEST DIAGNOSTICI DI PATOLOGIA EPATICA .....	22
3.a. Alfa-1-antitripsina.....	22
3.b. Alfa-fetoproteina.....	23
3.c. Markers di epatite virale .....	24
<i>Epatite A</i> .....	24
<i>Epatite B</i> .....	24
<i>Epatite C</i> .....	26
3.d. Markers di epatite alcolica.....	27
3.e. Markers di epatite da farmaci.....	28
3.f. Markers di epatite autoimmune .....	29
II Parte. DIAGNOSTICA STRUMENTALE.....	31
1. DIAGNOSTICA PER IMMAGINI DEL FEGATO .....	31
1.a. Ecografia .....	31
1.b. Tomografia computerizzata (TC).....	33
1.c. Risonanza Magnetica Nucleare (RMN).....	34
1.d. Colangiopancreatografia associata a RM (MRCP) e Colangiopancretografia retrograda endoscopica (CPRE).....	34
1.e. Elastografia epatica e Fibroscan .....	35
2. BIOPSIA EPATICA .....	35
III Parte. NUOVI TEST DIAGNOSTICI.....	37
CONCLUSIONI.....	41
BIBLIOGRAFIA.....	42