

MODELLI DI MALATTIA**STRESS OSSIDATIVO: RUOLO FISIOPATOLOGICO E POSSIBILE TARGET TERAPEUTICO NELLA STEATOSI EPATICA NON ALCOLICA E NELLE MALATTIE CARDIOVASCOLARI****Oxidative stress: physiopathological role and possible therapeutic target in non-alcoholic fatty liver disease and in cardiovascular diseases****MARIA DEL BEN¹, FRANCESCO BARATTA^{1,2}, LORENZO LOFFREDO¹, FRANCESCO ANGELICO³**¹Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche;^{1,2}Dipartimento di Scienze Anatomiche, Istologiche, Medico-Legali e dell'Apparato Locomotore;³Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma**SUMMARY**

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease with an estimated prevalence of about 20% in the general population. The disease is generally benign, but some patients may progress to non-alcoholic steatohepatitis (NASH) or liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. A strong association between NAFLD and cardiovascular disease has been reported. In fact, subjects with NAFLD are more likely to experience a cardiovascular event than a complication related to the progression of hepatic disease. The association between NAFLD and cardiovascular disease is based on epidemiological, clinical and pathophysiological evidence. Increased oxidative stress may be a pathophysiological condition common to NAFLD and atherosclerosis. In fact, an increase in oxidative stress is observed in many chronic conditions often associated with NAFLD, such as hyperlipidemia, obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes, all associated with increased cardiovascular risk. Modulation of oxidative stress by means of interventions based on antioxidant supplementation, such as polyphenols and vitamin E, has been proposed for the treatment of both NAFLD and atherosclerosis. Large-scale controlled studies are required on patients with NAFLD. These should take into consideration both liver histology and surrogate markers for atherosclerosis.

Keywords: *non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, arteriosclerosis, oxidative stress, vitamin E, polyphenols.*

Indirizzo per la corrispondenza

Francesco Angelico

Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive - Sapienza Università,

Policlinico Umberto I - Viale del Policlinico, 155 - 00161 Roma - E-mail: francesco.angelico@uniroma1.it

Introduzione

La steatosi epatica non alcolica (NAFLD) è la più diffusa ed emergente malattia cronica del fegato nei paesi Occidentali e nei Paesi in via di sviluppo. Essa ha una prevalenza stimata di circa il 20% nella popolazione generale e prevalenze dell'ordine del 70-80% nei soggetti obesi e con diabete di tipo 2 (1). La malattia si presenta con un ampio spettro di alterazioni istologiche che vanno da una semplice steatosi sino alla comparsa di steato-epatite (NASH), caratterizzata dalla presenza di fibrosi e di infiammazione (2).

La steatosi semplice è considerata una condizione benigna che non comporta aggravamento e progressione della malattia. Al contrario, in una piccola percentuale di pazienti, solitamente in quelli con NASH e presenza di più marcata fibrosi epatica, la malattia può essere progressiva ed evolve verso la cirrosi e/o l'epatocarcinoma. La NASH oggi rappresenta la seconda più comune indicazione per il trapianto di fegato negli USA e si prevede che entro un breve periodo supererà l'epatite C e l'epatopatia alcolica come principale indicazione al trapianto (3). Inoltre, è oggetto di preoccupa-

zione il crescente numero di soggetti non cirrotici nei quali la NASH può progredire direttamente verso l'epatocarcinoma (4).

La diagnosi di NAFLD viene solitamente effettuata attraverso l'ecografia addominale che, negli studi che l'hanno confrontata con l'esame "golden standard", la biopsia epatica, ha dimostrato avere buona sensibilità ed elevata specificità per la diagnosi di steatosi (5). Più recentemente, soprattutto in ambito di ricerca, la valutazione della steatosi viene effettuata per mezzo della risonanza magnetica (6). Diversamente, la diagnosi di NASH si effettua attraverso la biopsia epatica, utilizzando criteri standardizzati basati sulla valutazione del NAS (NAFLD activity score) che prende in considerazione punteggi separati per la steatosi, la degenerazione palloniforme, l'infiammazione e la fibrosi (7). Tuttavia, la maggior parte dei pazienti con la NAFLD non necessitano di dovere eseguire una biopsia epatica, soprattutto per ragioni etiche. Essa non è infatti indicata soprattutto in coloro che non presentano una malattia epatica significativa.

Sia la steatosi semplice che la NASH si associano spesso alla presenza di comuni alterazioni metaboliche quali l'obesità addominale, la dislipidemia aterogena, il diabete di tipo 2 ed in particolare la sindrome metabolica, della quale è stato suggerito possano rappresentare la componente epatica (1). La patogenesi della NAFLD e della NASH è multifattoriale e sono stati proposti numerosi meccanismi fisiopatologici per spiegare il processo di eccessivo accumulo di grasso nel fegato e la successiva possibile induzione di infiammazione e di fibrosi (8).

Sulla base della tradizionale teoria dei "two hits" (9), si ritiene che l'aumentata resistenza insulinica sia alla base delle prime fasi della steatosi epatica, principalmente attraverso una aumentata mobilitazione di acidi grassi dal tessuto adiposo viscera-

Bullet points

- La NAFLD è la più comune malattia epatica.
- La NAFLD si associa ad un aumentato rischio cardiovascolare.
- Sia nella NAFLD che nell'arteriosclerosi vi sono condizioni di aumentato stress ossidativo.
- Lo stress ossidativo può rappresentare un target terapeutico nella NAFLD e nell'arteriosclerosi.
- La terapia antiossidante con la vitamina E e con i polifenoli mostra effetti favorevoli nella NAFLD e nell'arteriosclerosi.

le al fegato. Tuttavia, si discute molto se l'insulino-resistenza e la conseguente iperinsulinemia siano una possibile causa di steatosi o piuttosto sia la NAFLD stessa a promuovere una condizione di iperinsulinemia come risultato di una sua rallentata degradazione (10-12). Al contrario, l'aumentato stress ossidativo sembra costituire uno dei principali fattori nella promozione del danno epatico nella NAFLD, svolgendo un ruolo fondamentale soprattutto sulla progressione dalla steatosi semplice alla NASH (13). Ciò avverrebbe, in particolare, come conseguenza di una aumentata perossidazione lipidica, infiammazione, e aumentata fibrogenesi conseguente all'attivazione delle cellule stellate. Inoltre, i radicali liberi dell'ossigeno (ROS) sono anche in grado di inibire la secrezione epatica delle VLDL favorendo così una ulteriore accumulo intraepatico di lipidi (14).

Più recentemente, accanto alla tradizionale ipotesi dei "two hits", è stata proposta una "multiple hits" ipotesi che accanto all'insulino-resistenza e allo stress ossidativo identifica come possibili fattori patogenetici nello sviluppo della NAFLD numerose altre condizioni tra le quali l'infiammazione cronica di basso grado, alcune mutazioni genetiche ed epigenetiche e fattori di derivazione dal microbiota intestinale. Questi fattori possono essere variamente associati con la NAFLD in presenza o in assenza della sindrome metabolica (8).

Per la NAFLD sono stati proposti numerosi approcci terapeutici. Tuttavia l'unica strategia sicuramente efficace è la perdita di almeno il 5% del peso corporeo nei soggetti in sovrappeso e/o obesi e l'assunzione della vitamina E solo nei pazienti con NASH non diabetici. Ad oggi, non vi sono trattamenti farmacologici approvati per la NAFLD (15).

Tradizionalmente, la NAFLD è stata principalmente considerata come una con-

dizione clinica in grado di progredire verso la comparsa di complicanze a livello del fegato quali la cirrosi, l'epatocarcinoma e la mortalità epatica. Sulla base di queste considerazioni, il paziente con steatosi epatica è stato sempre indirizzato all'epatologo con l'obiettivo di impedire o rallentare la progressione della malattia verso la cirrosi. Tuttavia, in assenza di una significativa fibrosi, la maggioranza dei pazienti ha una bassa probabilità di avere una malattia epatica evolutiva (2). Al contrario, numerosi dati epidemiologici indicano una forte associazione tra NAFLD e malattie cardiovascolari. I soggetti con NAFLD hanno una maggiore probabilità di andare incontro ad un evento cardiovascolare maggiore rispetto ad una complicanza legata alla progressione della malattia epatica. Inoltre, l'aumento del rischio cardiovascolare sembra essere maggiore nei soggetti con la NASH rispetto a quelli con la steatosi semplice (16). Recentemente, un numero sempre maggiore di pubblicazioni scientifiche ha sottolineato il concetto di NAFLD come condizione clinica caratterizzata principalmente da un aumentato rischio cardiovascolare.

NAFLD e malattie cardiovascolari

L'associazione fra NAFLD e malattie cardiovascolari si basa su evidenze epidemiologiche, cliniche e fisiopatologiche. Tuttavia, la maggior parte delle informazioni derivano da studi condotti su piccole casistiche di soggetti con NAFLD documentata prevalentemente con l'ecografia epatica o su casistiche più ampie nelle quali la diagnosi è stata effettuata prendendo in considerazione markers surrogati di malattia, quali gli enzimi epatici. Un numero limitato di studi, condotti peraltro su piccole casistiche di soggetti con NAFLD, ha utilizzato la biopsia epa-

tica a causa delle sue limitate indicazioni al di fuori del sospetto della presenza di una malattia epatica progressiva. Per questo motivo, pochi studi si sono addentrati nella differenziazione tra steatosi semplice e NASH, distinzione fondamentale per valutare l'eventuale associazione tra l'infiammazione e/o fibrosi epatica e l'arteriosclerosi (17).

Una recente meta-analisi ha riassunto le evidenze che hanno posto in relazione la NAFLD con le alterazioni dei markers surrogati di aterosclerosi e con la presenza di aterosclerosi carotidea (18). In particolare, la meta-analisi di Ampuero et al. ha dimostrato che la NAFLD, diagnosticata con l'ecografia epatica o con la biopsia, si associa ad un aumentato rischio di concomitante aterosclerosi subclinica, definita come aumentato spessore medio-intimale o presenza di placche a livello carotideo. Inoltre, gli autori riportano che, analizzando gli studi nei quali veniva eseguita un'angiografia coronarica, la malattia coronarica risultava maggiormente prevalente tra i pazienti con NAFLD (80,4%) rispetto a quelli senza steatosi epatica (60,7%).

Le evidenze maggiori circa l'associazione tra malattie cardiovascolari e la NAFLD, derivano da studi osservazionali longitudinali. Tuttavia, gli studi prospettici sono ancora esigui e insufficienti per una valutazione definitiva di tale associazione. Nel 2016, Targher et al. (19) hanno riassunto in una meta-analisi i dati derivanti da studi longitudinali basati sulla diagnosi di NAFLD effettuata con l'ecografia e/o con la biopsia, includendo sia studi retrospettivi che prospettici, in modo da ottenere una elevata numerosità del campione globale (34,043 pazienti totali). Dai risultati di questa meta-analisi, i pazienti con NAFLD risulterebbero a maggior rischio di sviluppare la malattia coronarica (random effect odds ratio [OR] 1,64). In aggiunta, il ri-

schio risulterebbe maggiormente elevato nei pazienti che presentano una NAFLD più severa (OR 2,58), definizione con la quale gli Autori identificano i pazienti con diagnosi biotipica di NASH e quelli con diagnosi ecografica di NAFLD e concomitante rialzo delle GGT o con elevato NAFLD fibrosis score.

NAFLD e stress ossidativo

L'aumentato stress ossidativo può rappresentare una condizione fisiopatologica in comune alla NAFLD e all'arteriosclerosi (13). Inoltre, un aumento dello stress ossidativo si osserva in numerose patologie croniche spesso associati alla NAFLD, quali l'ipercolesterolemia (20), l'obesità (21), la sindrome metabolica (22) e la sindrome delle apnee ostruttive del sonno (23), tutte condizioni a loro volta associate ad un aumentato rischio cardiovascolare. Infatti, da un lato una eccessiva produzione di ROS è responsabile della ossidazione delle LDL, che promuovono la trasformazione dei macrofagi in cellule schiumose, processo che rappresenta la prima fase dello sviluppo della lesione arteriosclerotica. Dall'altro lato, la perossidazione dei lipidi ad opera dei ROS, a livello epatico può indurre infiammazione e fibrosi, mediante l'attivazione del compartimento delle cellule stellate (24).

La NADPH ossidasi è considerata la più importante fonte cellulare di stress ossidativo e la sua attivazione è stata associata al possibile sviluppo di danno epatico (25). Le isoforme della NADPH ossidasi, che comprendono la NOX1, NOX2 e NOX4, regolano l'attivazione delle cellule stellate epatiche e l'apoptosi epatica, due aspetti centrali nelle fasi iniziali della fibrogenesi (26, 27). Studi sperimentali hanno dimostrato che nel topo knockout per la NOX2 per difetto della p47phox, dopo in-

duzione di danno epatico per mezzo della legatura del dotto biliare o dopo una dieta deficiente in metionina, si osservava una riduzione della steatosi ma non della fibrosi (28), suggerendo così che la NOX2 possa rappresentare un possibile target per contrastare la NASH.

Pochi studi hanno valutato lo stato anti-ossidante e pro-ossidante nella NAFLD. Il nostro gruppo, negli ultimi anni, ha studiato lo stress ossidativo nei soggetti con NAFLD. In un primo studio, abbiamo osservato un aumentato stress ossidativo in vivo in una vasta casistica di pazienti con NAFLD. Ciò è stato documentato misurando i livelli urinari dell'8-iso-prostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α), che deriva dall'ossidazione non enzimatica dell'acido arachidonico, e i livelli sierici della soluble NOX2-derived peptide (sNOX2-dp), che rappresenta un indicatore dell'attivazione della NOX2, principale isoforma della NADPH responsabile della produzione dei ROS. In questo studio, l'aumento dei livelli urinari di 8-iso-prostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α) e di

quelli sierici di sNOX2-dp osservato nella NAFLD era indipendente dall'obesità, dal diabete e dalla sindrome metabolica ed aumentava progressivamente con l'aumentare della severità della malattia all'ecografia del fegato. Inoltre, nella stessa casistica, i livelli urinari di 8-iso-PGF2 α erano associati in modo indipendente ai livelli sierici di citocheratina-18, marker epatico validato di apoptosi, suggerendo così anche un possibile ruolo del danno epatico sullo stress ossidativo a livello sistemico (24).

Più recentemente, su una più ampia casistica di soggetti con NAFLD, abbiamo dimostrato una significativa riduzione dei livelli plasmatici di vitamina E sia nei soggetti con steatosi semplice che in quelli con NASH, suggerendo in tal modo la presenza di un aumentato stress ossidativo anche nelle fasi più precoci della malattia. La vitamina E è una importante vitamina liposolubile anti-ossidante, che protegge le membrane cellulari e le lipoproteine dalla perossidazione. I livelli circolanti di vitamina E sono considerati un buon indice

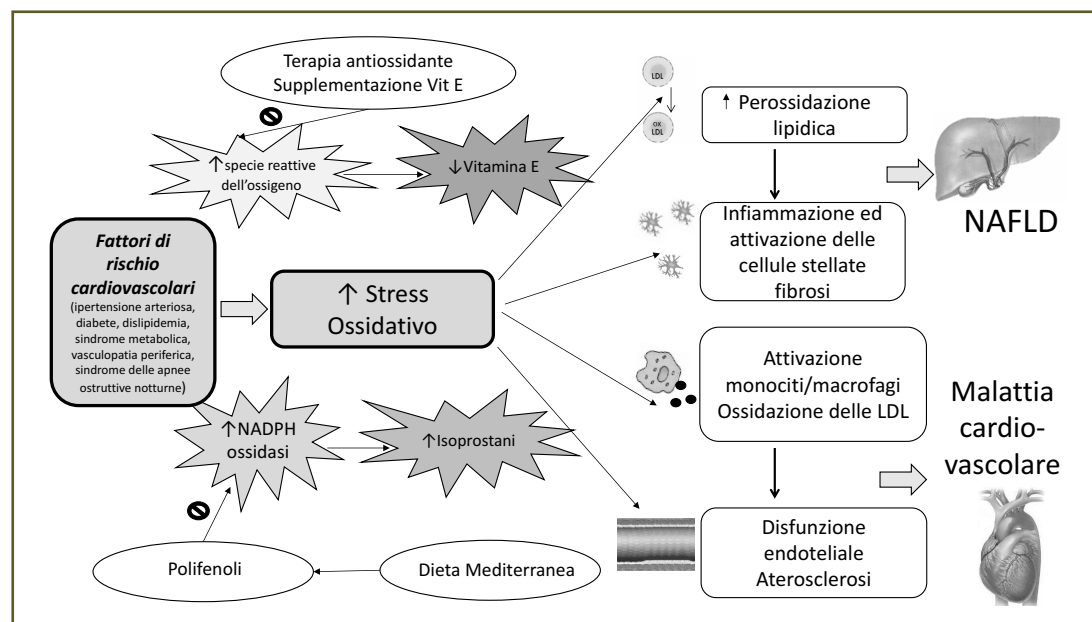


Figura 1 - Possibili effetti fisiopatologici dello stress ossidativo nella NAFLD e nelle malattie cardiovascolari.

dello stato antiossidante e sono correlati in modo inverso con i markers di stress ossidativo. È possibile ipotizzare che la presenza di un aumentato stress ossidativo nella NAFLD possa a sua volta indurre una riduzione degli antiossidanti naturali come conseguenza di un loro eccessivo consumo (29).

In un ulteriore studio abbiamo dimostrato che i pazienti con NAFLD presentano una minore dilatazione brachiale flusso mediata (FMD - flow mediated dilation), che risulta più evidente in un sottogruppo di pazienti con NASH. L'FMD è considerato un marker di aterosclerosi e della funzione endoteliale. Insieme all'infiammazione sistemica di basso grado, lo stress ossidativo è uno dei principali fattori in grado di compromettere la funzione endoteliale, con relativa riduzione dell'FMD. In molti studi prospettici la riduzione dell'FMD si è dimostrata un importante fattore predittivo di eventi cardiovascolari (30, 31).

Stress ossidativo e arteriosclerosi

Lo stress ossidativo, caratterizzato dallo squilibrio del rapporto fra fattori pro-ossidanti ed anti-ossidanti a favore dei primi, è una delle condizioni che contribuisce di più alla progressione del processo dell'aterogenesi. Numerose situazioni cliniche associate alle malattie cardiovascolari sono caratterizzate da una eccessiva produzione di fattori pro-ossidanti e una relativa diminuzione di fattori anti-ossidanti. Ciò avviene principalmente nel diabete di tipo 2, nell'ipercolesterolemia, nella sindrome metabolica, nell'obesità e nell'ipertensione. Come già detto, anche la NAFLD già nelle sue prime fasi ed ancor più la NASH sono caratterizzate da una condizione di aumentato stress ossidativo.

Un crescente numero di evidenze sembra dimostrare che la NAFLD si associa

ad un aumento della mortalità ed in particolare dell'incidenza di eventi cardiovascolari (13). Tuttavia non è ancora chiaro se l'aumento del rischio cardiovascolare dipenda dalla NAFLD in sé o piuttosto dalla coesistenza di condizioni quali, ad esempio, la sindrome metabolica che sono frequentemente presenti nei soggetti con NAFLD. L'aumento dello stress ossidativo può essere implicato sia nello sviluppo delle malattie cardiovascolari che nello sviluppo della NASH e può rappresentare un possibile link fra le due condizioni. Un'aumentata produzione di ROS può infatti modificare la coagulazione e la funzionalità piastrinica con conseguente alterazione della funzione endoteliale ed aumento del rischio di trombosi (32). Infatti, nelle fasi iniziali dell'aterogenesi, il danno maggiore a carico dell'endotelio è quello causato dai ROS e dalle altre molecole pro-ossidanti che si associano alla presenza dei fattori di rischio e che sono prodotte da vari tipi di cellule, comprese le piastrine.

L'azione patogena dei ROS a livello della placca, che si realizza in una fase di malattia più avanzata, è stata documentata in molti lavori. Come già detto, un'eccessiva produzione di ROS è responsabile dell'ossidazione delle LDL, che a loro volta promuovono la trasformazione dei macrofagi in cellule schiumose. Allo stesso modo i ROS possono indurre l'espressione dei recettori scavenger anche sulle cellule muscolari lisce, promuovendo anche la loro trasformazione in cellule schiumose. Inoltre, i ROS inducono modificazioni della matrice extracellulare promuovendo il rilascio di metalloproteinasi e rendendo la placca meno stabile e maggiormente esposta a rottura (33, 34).

I pazienti con granulomatosi cronica e deficienza ereditaria della NOX2, rappresentano un interessante modello sperimentale riguardo la correlazione tra

stress ossidativo, arteriosclerosi e malattie cardiovascolari (35). Questi pazienti, in assenza di stress ossidativo, presentano un aumentato FMD, una ridotta attivazione piastrinica e una minore arteriosclerosi carotidea (36-38).

Benefici della terapia antiossidante

Numerosi studi hanno valutato gli effetti protettivi dei vari antiossidanti naturali e sintetici, da soli o in combinazione, sulla progressione dell'arteriosclerosi e nella prevenzione primaria e secondaria degli eventi cardiovascolari. Tuttavia, i risultati sono risultati spesso contrastanti e la maggior parte degli studi non ha mostrato effetti protettivi (39).

Al contrario, studi epidemiologici e di intervento hanno mostrato come gli alimenti ricchi in polifenoli, quali l'olio extravergine di oliva, la frutta secca e il cioccolato fondente, si associano ad un minore rischio di eventi cardiovascolari e/o alla modulazione dei fattori di rischio. Ciò avviene principalmente attraverso la riduzione della NOX2 e dell'attivazione piastrinica, al miglioramento della funzione endoteliale e alla diminuzione della colesterolemia LDL, dell'insulino-resistenza e della pressione arteriosa. I più significativi e recenti risultati a questo proposito derivano dallo studio Predimed (40, 41), nel quale sono stati confrontati gli effetti di una Dieta Mediterranea supplementata con olio extravergine di oliva o con noci ed arachidi, rispetto ad una dieta ipolipidica. Le diete sperimentali si associavano ad una riduzione significativa di eventi cardiovascolari maggiori e di diabete di tipo2 e ad un significativo miglioramento dei fattori di rischio cardiovascolare classici ed emergenti tra i quali la pressione arteriosa, il profilo lipidico, l'insulino-resistenza, l'infiammazione e lo stress ossidativo.

La modulazione dello stress ossidativo è stata proposta anche per il trattamento della NASH. I polifenoli sono una classe di composti naturali sintetici e semisintetici caratterizzati dalla presenza di larghe unità multiple di fenoli (42). Il cacao è un nutriente ricco in polifenoli. I polifenoli contenuti nel cioccolato fondente (prevalentemente catechina ed epicatechina) riducono lo stress ossidativo, migliorano la funzione endoteliale, inibiscono l'aggregazione piastrinica e modulano i processi centrali dell'infiammazione, neurotrasmissione e citotossicità (43). Inoltre, i polifenoli del cioccolato migliorano anche l'insulino resistenza, la colesterolemia e la pressione arteriosa (44).

I polifenoli contenuti nel cioccolato fondente, hanno nella NAFLD/NASH un effetto antiossidante mediato dalla riduzione della NOX2. Recenti studi condotti nell'uomo e nell'animale suggeriscono che il cacao potrebbe aiutare ad evitare lo sviluppo della NAFLD attraverso la riduzione dello stress ossidativo (45). Studi sperimentali suggeriscono anche che la NOX potrebbe giocare un ruolo centrale nello sviluppo della NASH (25, 28) e che la supplementazione con cacao riduce il danno epatico per mezzo dell'inibizione della NOX (46). Infine, studi epidemiologici suggeriscono che il cacao possa avere favorevoli effetti cardiovascolari (47-49). In particolare, il cioccolato fondente è in grado di diminuire lo stress ossidativo ed aumentare l'FMD per mezzo della riduzione dell'attivazione della NOX2, subunità catalitica della NADPH ossidasi (50, 51).

In una recente ricerca, abbiamo dimostrato un effetto favorevole da parte della somministrazione per 15 giorni di 40 g al giorno di cioccolato fondente in pazienti con NASH e aumentato stress ossidativo. La riduzione del sNOX2-dp del siero correlava con la riduzione dell'8-iso-PGF2 α ,

delle ALT e della citocheratina-18, confermando un effetto favorevole dei polifenoli del cioccolato fondente sullo stress ossidativo e sull'apoptosi epatica (48).

In un successivo studio condotto da Loffredo et al. è stato dimostrato come la FMD sia progressivamente ridotta e l'attivazione della NOX2 sia progressivamente aumentata nei pazienti con NAFLD rispetto a quelli con NASH. Inoltre, nei pazienti con NASH, è stata osservata una azione inibitoria da parte dei polifenoli del cioccolato fondente sullo stress ossidativo mediato dalla NOX2 e sul miglioramento della funzione endoteliale (52).

La vitamina E è l'antiossidante più studiato ed impiegato in trials clinici di ampie dimensioni. La vitamina E (alfa-tocoferolo) è una importante vitamina liposolubile anti-ossidante, che protegge le membrane cellulari e le lipoproteine dalla perossidazione. I livelli circolanti di vitamina E sono considerati un buon indice dello stato antiossidante e sono correlati in modo inverso con i markers di stress ossidativo. La vitamina E può svolgere un effetto antiarteriosclerotico, prevenendo l'accumulo delle LDL nella parete vasale attraverso un meccanismo mediato dallo stress ossidativo, inibendo la proliferazione delle cellule muscolari, l'adesione dei monociti endoteliali e il rilascio di citochine infiammatorie. Una recente metanalisi ha dimostrato

che la supplementazione con vitamina E al dosaggio di 400-800 UI/die è in grado di ridurre l'incidenza di infarto miocardico fatale di circa il 20%, mentre dosaggi inferiori o l'associazione insieme ad altri antiossidanti sono inefficaci (53).

Lo studio Pivens (54) ha dimostrato come l'assunzione di vitamina E al dosaggio di 800 UI/die sia in grado di migliorare l'istologia epatica in soggetti non diabetici con la NASH. In particolare, si osservava la riduzione delle ALT e una diminuzione della steatosi e dell'infiammazione lobulare, ma non della fibrosi. Inoltre, in una meta-analisi di 5 trials clinici controllati di piccole dimensioni, la supplementazione con vitamina E si associava ad un miglioramento della steatosi, dell'infiammazione lobulare e della fibrosi alla biopsia epatica. Diversamente, risultati negativi sono stati osservati nel TONIC trial (55), condotto su bambini affetti da NASH, nei quali non si osservava alcun effetto da parte del trattamento con vitamina E sulle ALT e sulla steatosi, l'infiammazione e la fibrosi valutate con la biopsia epatica. Tuttavia, si osservava una maggiore risoluzione della NASH rispetto al trattamento con placebo, dovuta principalmente alla riduzione del ballooning epatocellulare. Sulla base di questi risultati, nelle linee-guida EASL sul trattamento nella NAFLD/NASH si conclude che la vitamina E può essere utilizzata nei pazienti adulti non diabetici con NASH ma che ulteriori studi sono necessari prima che si possa effettuare una più forte raccomandazione (15). Le Linee-guida non raccomandano altre forme di terapia antiossidante per il trattamento della NAFLD.

Glossario

NAFLD: steatosi epatica non alcolica

NASH: steato-epatite non alcolica

NAS: NAFLD activity score

ROS: specie reattive dell'ossigeno

NADPH: nicotinammide adenina dinucleotide fosfato

8-iso-PGF2 α : 8-iso-prostaglandin F2 α

FMD: dilatazione flusso mediata

Prospettive future

La NAFLD, vista in passato come una patologia di esclusivo interesse epatologico, oggi deve essere reinterpretata come

una condizione di interesse prevalentemente internistico associata ad un aumento del rischio cardiovascolare. Il principale approccio terapeutico deve quindi basarsi sul controllo dei fattori di rischio cardiovascolare con particolare attenzione alla

sindrome metabolica. Notevole interesse sembrano avere gli interventi nutrizionali e/o nutraceutici in grado di modulare lo stress ossidativo favorendo il miglioramento dell'istologia del fegato e dei markers surrogati di arteriosclerosi.

RIASSUNTO

La steatosi epatica non alcolica (NAFLD) è la più comune malattia del fegato con una prevalenza stimata di circa il 20% nella popolazione generale. La malattia è generalmente benigna, ma in una certa percentuale di casi può progredire verso la steatoepatite non alcolica (NASH) o la cirrosi epatica e l'epatocarcinoma. Numerosi dati indicano una forte associazione tra NAFLD e malattie cardiovascolari. Infatti, i soggetti con NAFLD hanno una maggiore probabilità di andare incontro ad un evento cardiovascolare maggiore rispetto ad una complicanza legata alla progressione della malattia epatica. L'associazione fra NAFLD e malattie cardiovascolari si basa su evidenze epidemiologiche, cliniche e fisiopatologiche.

L'aumentato stress ossidativo può rappresentare una condizione fisiopatologica in comune alla NAFLD e all'arteriosclerosi. Un aumento dello stress ossidativo si osserva infatti in numerose patologie croniche spesso associate alla NAFLD, quali l'iperlipidemia, l'obesità, la sindrome metabolica e il diabete di tipo 2, tutte condizioni a loro volta associate ad un aumentato rischio cardiovascolare.

La modulazione dello stress ossidativo per mezzo di interventi basati sulla supplementazione con antiossidanti, quali i polifenoli e la vitamina E, è stata proposta per il trattamento sia della NAFLD che dell'arteriosclerosi. Sono necessari ampi studi controllati su pazienti con NAFLD che prendano in considerazione allo stesso tempo l'istologia del fegato e i markers surrogati di arteriosclerosi.

Parole chiave: *steatosi epatica non alcolica, steatoepatite non alcolica, arteriosclerosi, stress ossidativo, vitamina E, polifenoli.*

Bibliografia

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016; 64: 73-84.
2. Calzadilla Bertot L, Adams LA. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 2016; 17.
3. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*. 2015; 148: 547-555.
4. Khan FZ, Perumpail RB, Wong RJ, Ahmed A. Advances in hepatocellular carcinoma: Nonalcoholic steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*. 2015; 7: 2155-2161.
5. Hamaguchi M, Kojima T, Itoh Y, et al. The severity of ultrasonographic findings in nonalcoholic fatty liver disease reflects the metabolic syndrome and visceral fat accumulation. *Am J Gastroenterol*. 2007; 102: 2708-2715.
6. Shenoy-Bhangle A, Baliyan V, Kordbacheh H, et al. Diffusion weighted magnetic resonance imaging of liver: Principles, clinical applications and recent updates. *World J Hepatol*. 2017; 9: 1081-1091.
7. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005; 41: 1313-1321.
8. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Multiple hits, including oxidative stress, as pathogenesis and treatment target in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci*. 2013; 14: 20704-20728.
9. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*. 1998; 114: 842-845.
10. Targher G, Marchesini G, Byrne CD. Risk of type 2 diabetes in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Causal association or epiphenomenon? *Diabetes Metab*. 2016; 42: 142-156.
11. Ballestri S, Zona S, Targher G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome. Evidence from a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2016; 31: 936-944.

12. Dai W, Ye L, Liu A, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96: e8179.
13. Polimeni L, Del Ben M, Baratta F, et al. Oxidative stress: New insights on the association of non-alcoholic fatty liver disease and atherosclerosis. *World J Hepatol*. 2015; 7: 1325-1336.
14. Gambino R, Musso G, Cassader M. Redox balance in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease: mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2011; 15: 1325-1365.
15. European Association for the Study of the Liver. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016; 64: 1388-1402.
16. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010; 363: 1341-1350.
17. Adams LA, Anstee QM, Tilg H, Targher G. Non-alcoholic fatty liver disease and its relationship with cardiovascular disease and other extrahepatic diseases. *Gut*. 2017; 66: 1138-1153.
18. Ampuero J, Gallego-Duran R, Romero-Gomez M. Association of NAFLD with subclinical atherosclerosis and coronary-artery disease: meta-analysis. *Rev Esp Enferm Dig*. 2015; 107: 10-16.
19. Targher G, Byrne CD, Lonardo A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: A meta-analysis. *J Hepatol*. 2016; 65: 589-600.
20. Katsiki N, Mikhailidis DP, Mantzoros CS. Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. *Metabolism*. 2016; 65: 1109-1123.
21. Machado MV, Cortez-Pinto H. Diet, Microbiota, Obesity, and NAFLD: A Dangerous Quartet. *Int J Mol Sci*. 2016; 17: 481.
22. Lonardo A, Ballestri S, Marchesini G, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: a precursor of the metabolic syndrome. *Dig Liver Dis*. 2015; 47: 181-190.
23. Aron-Wisnewsky J, Clement K, Pepin JL. Nonalcoholic fatty liver disease and obstructive sleep apnea. *Metabolism*. 2016; 65: 1124-1135.
24. Del Ben M, Polimeni L, Carnevale R, et al. NOX2-generated oxidative stress is associated with severity of ultrasound liver steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*. 2014; 14: 81.
25. De Minicis S, Bataller R, Brenner DA. NADPH oxidase in the liver: defensive, offensive, or fibrogenic? *Gastroenterology*. 2006; 131: 272-275.
26. Jiang JX, Venugopal S, Serizawa N, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 2 plays a key role in stellate cell activation and liver fibrogenesis in vivo. *Gastroenterology*. 2010; 139: 1375-1384.
27. Liang S, Kisseleva T, Brenner DA. The Role of NADPH Oxidases (NOXs) in Liver Fibrosis and the Activation of Myofibroblasts. *Front Physiol*. 2016; 7: 17.
28. De Minicis S, Seki E, Oesterreicher C, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase mediates fibrotic and inflammatory effects of leptin on hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2008; 48: 2016-2026.
29. Pastori D, Baratta F, Carnevale R, et al. Similar Reduction of Cholesterol-Adjusted Vitamin E Serum Levels in Simple Steatosis and Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Clin Transl Gastroenterol*. 2015; 6: e113.
30. Pastori D, Loffredo L, Perri L, et al. Relation of nonalcoholic Fatty liver disease and Framingham risk score to flow-mediated dilation in patients with cardiometabolic risk factors. *Am J Cardiol*. 2015; 115: 1402-1406.
31. Matsuzawa Y, Kwon TG, Lennon R, et al. Prognostic Value of Flow-Mediated Vasodilation in Brachial Artery and Fingertip Artery for Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc*. 2015; 4.
32. Violi F, Loffredo L, Carnevale R, et al. Atherothrombosis and Oxidative Stress: Mechanisms and Management in Elderly. *Antioxid Redox Signal*. 2017; 27: 1083-1124.
33. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2017; 19: 42.
34. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002; 420: 868-874.
35. Loffredo L. Chronic granulomatous disease. *Intern Emerg Med*. 2011; 6 (Suppl. 1): 125-128.
36. Violi F, Carnevale R, Loffredo L, et al. NADPH Oxidase-2 and Atherothrombosis: Insight From Chronic Granulomatous Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017; 37: 218-225.
37. Loffredo L, Carnevale R, Sanguigni V, et al. Does NADPH oxidase deficiency cause artery dilatation in humans? *Antioxid Redox Signal*. 2013; 18: 1491-1496.
38. Violi F, Sanguigni V, Carnevale R, et al. Hereditary deficiency of gp91 (phox) is associated with enhanced arterial dilatation: results of a multicenter study. *Circulation*. 2009; 120: 1616-1622.
39. Siekmeier R, Steffen C, Marz W. Role of oxidants and antioxidants in atherosclerosis: results of in vitro and in vivo investigations. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2007; 12: 265-282.
40. Martinez-Gonzalez MA, Salas-Salvado J, Estruch R, et al. Predimed I. Benefits of the Mediterranean

- nean Diet: Insights From the PREDIMED Study. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015; 58: 50-60.
41. Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*. 2013; 368: 1279-1290.
 42. Loffredo L, Perri L, Nocella C, Violi F. Antioxidant and antiplatelet activity by polyphenol-rich nutrients: focus on extra virgin olive oil and cocoa. *Br J Clin Pharmacol*. 2017; 83: 96-102.
 43. Loffredo L, VF. *Polyphenolic Antioxidants and Health*: Springer, 2013.
 44. Taubert D, Roesen R, Lehmann C et al. Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2007; 298: 49-60.
 45. Suzuki K, Nakagawa K, Miyazawa, T et al. Oxidative stress during development of alcoholic fatty liver: therapeutic potential of cacao polyphenol. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013; 77: 1792-1794.
 46. Janevski M, Antonas KN, Sullivan-Gunn MJ, et al. The effect of cocoa supplementation on hepatic steatosis, reactive oxygen species and LFABP in a rat model of NASH. *Comp Hepatol*. 2011; 10: 10.
 47. Buijsse B, Weikert C, Drogan D, et al. Chocolate consumption in relation to blood pressure and risk of cardiovascular disease in German adults. *Eur Heart J*. 2010; 31: 1616-1623.
 48. Buijsse B, Feskens EJ, Kok FJ, Kromhout D. Cocoa intake, blood pressure, and cardiovascular mortality: the Zutphen Elderly Study. *Arch Intern Med*. 2006; 166: 411-417.
 49. Mink PJ, Scrafford CG, Barraj LM, et al. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: a prospective study in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85: 895-909.
 50. Carnevale R, Loffredo L, Pignatelli P, et al. Dark chocolate inhibits platelet isoprostanes via NOX2 down-regulation in smokers. *J Thromb Haemost*. 2012; 10: 125-132.
 51. Loffredo L, Carnevale R, Perri L, et al. NOX2-mediated arterial dysfunction in smokers: acute effect of dark chocolate. *Heart* 2011; 97: 1776-1781.
 52. Loffredo L, Del Ben M, Perri L et al. Effects of dark chocolate on NOX-2-generated oxidative stress in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 44: 279-286.
 53. Loffredo L, Perri L, Di Castelnuovo A, et al. Supplementation with vitamin E alone is associated with reduced myocardial infarction: a meta-analysis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2015; 25: 354-363.
 54. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010; 362: 1675-1685.
 55. Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA*. 2011; 305: 1659-1668.