



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Scienze Chirurgiche Oncologiche e Gastroenterologiche

Direttore: Prof. Fabio Farinati

UOC Gastroenterologia

Direttore: Prof. Fabio Farinati

TESI DI LAUREA

GLI SCORE FIB-4 E BARD SONO EFFICIENTI NELL'INDIVIDUARE IL RISCHIO DI HCC IN PAZIENTI AFFETTI DA NAFLD E S-MAFLD

Relatore: Ch.mo Prof. Fabio Farinati

Correlatore: Dott. Filippo Pelizzaro

Laureanda: Gaia D'Andria

Anno Accademico 2021/2022



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Scienze Chirurgiche Oncologiche e Gastroenterologiche

Direttore: Prof. Fabio Farinati

UOC Gastroenterologia

Direttore: Prof. Fabio Farinati

TESI DI LAUREA

GLI SCORE FIB-4 E BARD SONO EFFICIENTI NELL'INDIVIDUARE IL RISCHIO DI HCC IN PAZIENTI AFFETTI DA NAFLD E S-MAFLD

Relatore: Ch.mo Prof. Fabio Farinati

Correlatore: Dott. Filippo Pelizzaro

Laureanda: Gaia D'Andria

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	4
1.INTRODUZIONE	7
1.1 NAFLD: una malattia multisistemica	7
1.1.2 Epidemiologia.....	8
1.1.3 Storia clinica e patogenesi.....	9
1.1.4 Fattori di rischio di HCC	9
1.2 FATTORI DI RISCHIO E COMORBIDITA' NAFLD ASSOCIATI	10
1.2.1 Obesità	12
1.2.2 Diabete mellito di tipo 2.....	12
1.2.3 Genetica ed epigenetica.....	13
1.2.4 Variabilità interetnica	13
1.2.5 Fattori epigenetici	15
1.2.5.1 Ruolo dell'RNA non codificante.....	15
1.3 DIAGNOSI	16
1.3.1 Valutazione della NAFLD con l'ecografia.....	16
1.3.2 TC per la valutazione della steatosi epatica.....	17
1.3.3 Score diagnostici della NAFLD	11
1.3.4 Esami bioumorali.....	17
1.3.5 Score diagnostici rilevanti nella diagnosi di NAFLD	18
1.3.5.1 NAFLD FIBROSIS SCORE	18
1.3.5.2 APRI SCORE.....	19
1.3.6.3 FIB-4 Score.....	19
1.3.6.4 BARD Score.....	20
1.4 Prognosi e trattamento	21

1.5 Da NAFLD a MAFLD: una nuova denominazione	22
1.5.1 Criteri diagnostici della MAFLD.....	22
1.5.2 Prognosi ed evoluzione.....	24
1.6 Cirrosi epatica.....	24
1.6.1 Epidemiologia.....	25
1.6.2 Fattori di rischio	25
1.6.3 Patogenesi	26
1.6.5 Storia clinica della cirrosi	27
1.6.5 Test bioumorali	28
1.6.6 Diagnosi	28
1.6.7 Valutazione del rischio di scompenso	29
1.6.8 Complicanze della cirrosi epatica	30
1.6.8.2 Ipertensione portale	30
1.6.8.3 Ascite.....	32
1.7 Carcinoma epatocellulare	33
1.7.1 Epidemiologia e fattori di rischio	33
1.7.2 Sorveglianza.....	34
1.7.3 Diagnosi	36
1.7.4 Stadiazione	37
1.7.5 Trattamento	38
2.SCOPO DELLO STUDIO	42
3.MATERIALI E METODI	43
3.1 GRUPPI DI STUDIO.....	43
3.2 ANALISI STATISTICA.....	45
4.RISULTATI.....	47
4.1 TREND EPIDEMIOLOGICO NAFLD	47

4.1.2 CARATTERISTICHE DI BASE DEI PAZIENTI NAFLD.....	48
4.1.3 CONFRONTO SCORE DI FIBROSI IN PAZIENTI NAFLD	51
4.1.3.1 PERFORMANCE DEGLI SCORE IN PAZIENTI NAFLD NON CIRROTICI	52
4.1.1 CONFRONTO SOPRAVVIVENZA MEDIANA.....	53
4.2 TREND EPIDEMIOLOGICO S-MAFLD	57
4.2.1 CARATTERISTICHE DI BASE DEI PAZIENTI S-MAFLD.....	58
4.2.2 CONFRONTO SCORE DI FIBROSI PAZIENTI S-MAFLD	61
4.2.3.1 PERFORMANCE DEGLI SCORE IN PAZIENTI S-MAFLD NON CIRROTICI	
63	
4.2.4 CONFRONTO SOPRAVVIVENZA MEDIANA.....	64
5.DISCUSSIONE	68
6.CONCLUSIONI	73
7.Bibliografia	74

RIASSUNTO

Presupposti dello studio

L'incidenza delle epatopatie metaboliche (NAFLD, o MAFLD secondo la più recente definizione) è aumentata esponenzialmente nel corso del tempo. In parallelo, la NAFLD/MAFLD sta diventando sempre più frequentemente l'eziologia dell'epatopatia alla base dello sviluppo di HCC. Le incidenze della NAFLD e della MAFLD sono elevate e, ad oggi, non si hanno metodi a disposizione per discriminare i pazienti ad alto rischio e quindi meritevoli di sorveglianza per effettuare diagnosi precoce di HCC. Per tale motivo, diversi studi negli ultimi anni si sono focalizzati sull'individuare degli score predittivi (NAFLD fibrosis score, APRI, FIB-4 e BARD) di alto rischio di fibrosi per identificare i pazienti da porre in sorveglianza.

Scopo dello studio

L'obiettivo dello studio è di confrontare e valutare, in una popolazione di pazienti NAFLD-HCC e MAFLD-HCC alcuni score di fibrosi (NAFLD fibrosis score, FIB-4, APRI, BARD) che esprimono il rischio di insorgenza di HCC nei pazienti con epatopatia metabolica, con lo scopo di identificare, specialmente nella popolazione di pazienti non cirrotici, la prevalenza dei pazienti ad alto rischio e quindi meritevoli di sorveglianza, e di confrontare tra loro i vari score.

Materiali e metodi

Nel database Italian Liver Cancer (ITA.LI.CA), sono stati selezionati 472 pazienti con NAFLD-HCC e 935 pazienti con S-MAFLD-HCC (MAFLD a eziologia singola). Si è valutata e confrontata l'efficienza dei vari score di fibrosi (NAFLD fibrosis score, FIB-4, BARD, APRI), valutando quali tra questi fossero più efficienti nell'individuare i pazienti ad alto rischio. L'analisi di Cox è stata utilizzata per valutare le variabili indipendentemente associate con la sopravvivenza, includendo nel modello multivariato le variabili associate significativamente ($p \leq 0.1$) alla sopravvivenza, selezionandole in maniera tale da evitare la collinearità tra le variabili.

Risultati

La NAFLD e la MAFLD stanno divenendo le cause più frequenti di HCC, seconde solo all'eziologia virale (HCV), che in ogni caso tenderanno a superare nel prossimo futuro. Nella popolazione di pazienti NAFLD-HCC non vi sono sostanziali differenze riguardo la comorbidità tra cirrotici e non cirrotici ad eccezione del diabete, più frequentemente presente nei pazienti cirrotici (76.6% vs. 63.7%; $p=0.006$). Come atteso, i pazienti non cirrotici si presentano alla diagnosi con tumori monofocali, di maggiori dimensioni, più spesso infiltrativi e metastasi rispetto ai pazienti cirrotici.

Nei pazienti NAFLD si è notata una differenza significativa di sopravvivenza nei pazienti obesi e ipertesi rispetto ai pazienti senza comorbidità associate all'HCC. Gli score più validi nel valutare i pazienti ad alto rischio di HCC si sono rilevati il BARD, che consente di classificare il 69% dei pazienti come ad alto rischio, e il FIB-4 che ne classifica il 72.2%, non rivelando una differenza statisticamente significativa di efficienza tra i due score ($p=0.65$). I fattori che si associano in maniera indipendente alla prognosi del paziente sono risultati essere la diagnosi in sorveglianza (HR=0.61, IC 95%, 0.37-1.00; $p=0.05$) ed il trattamento principale (con un aumento del rischio di mortalità crescente da terapie curative a terapie progressivamente meno radicali).

Anche il trend epidemiologico della popolazione di 935 pazienti S-MAFLD è aumentato nel corso del tempo, superando l'eziologia virale (HBV) e l'alcool correlata. I pazienti S-MAFLD non cirrotici presentano noduli di dimensioni maggiori e più frequentemente invasivi e metastatici rispetto ai pazienti cirrotici. Gli score più validi, anche in questo caso, nei pazienti non cirrotici sono risultati il BARD e il FIB-4 che sono riusciti a classificare come ad alto rischio rispettivamente il 63.1% e il 74.2% di pazienti. In questa coorte di pazienti, il FIB-4 è risultato significativamente più efficace del BARD nel classificare i pazienti ad alto rischio di insorgenza di HCC (74.2% vs 63.1%; $p=0.02$). Nei pazienti S-MAFLD, non si è notata una differenza significativa di sopravvivenza tra i pazienti con/senza diabete e ipertensione, diversamente da quanto riscontrato nei pazienti NAFLD. Nei pazienti S-MAFLD-HCC, i fattori associati in maniera indipendente alla

sopravvivenza sono risultati essere il trattamento principale, il MELD (HR 1.07, IC 95%, 1.03-1.11; $P < 0.0001$) e lo stadio BCLC con aumento del rischio passando da uno stato BCLC più basso ad uno più alto.

Conclusioni

L'incidenza della NAFLD-HCC e MAFLD-HCC è in aumento e, secondo l'analisi dei nostri dati, del database ITA.LI.CA, tenderà a divenire la causa prevalente di carcinoma epatocellulare in Italia. Gli score che più efficienti nel classificare i pazienti con ad alto rischio di HCC sono il FIB-4 e il BARD sia per la popolazione pazienti con NAFLD che S-MAFLD, ma in quest'ultima il FIB-4 risulta più efficiente in maniera significativa.

ABSTRACT

Background

The incidence of metabolic liver disease (NAFLD, or MAFLD according to the most recent definition) has increased exponentially over time. In parallel, NAFLD/MAFLD is increasingly becoming the etiology of hepatopathy underlying the development of HCC. The incidences of NAFLD and MAFLD are high and, to date, there are no methods available to discriminate patients at high risk and therefore deserving of surveillance to make early diagnosis of HCC. Therefore, several studies in recent years have focused on identifying predictive scores (NAFLD fibrosis score, APRI, FIB-4 and BARD) of high risk of fibrosis to identify patients to be placed on surveillance.

Aim of the study

The aim of the study is to compare and evaluate, in a population of NAFLD-HCC and MAFLD-HCC patients, some fibrosis scores (NAFLD fibrosis score, FIB-4, APRI, BARD) that express the risk of HCC occurrence in patients with metabolic hepatopathy, with the aim of identifying, especially in the population of non-cirrhotic patients, the prevalence of patients at high risk and therefore deserving of surveillance, and to compare the various scores with each other.

Materials and Methods

In the Italian Liver Cancer (ITA.LI.CA) database, 472 patients with NAFLD-HCC and 935 patients with S-MAFLD-HCC (single etiology MAFLD) were selected. The efficiency of various fibrosis scores (NAFLD fibrosis score, FIB-4, BARD, APRI) was evaluated and compared, assessing which among them were more efficient in identifying high-risk patients. Cox analysis was used to evaluate variables independently associated with survival, including variables significantly ($p \leq 0.1$) associated with survival in the multivariate model, selecting them in a way that avoided collinearity between variables.

Results

NAFLD and MAFLD are becoming the most frequent causes of HCC, second only to viral etiology (HCV), which in any case will tend to surpass it soon. In the NAFLD-HCC patient population, there are no substantial differences regarding comorbidity between cirrhotic and non-cirrhotic patients except for diabetes, which is more frequently present in cirrhotic patients (76.6% vs. 63.7%; $p=0.006$). As expected, non-cirrhotic patients presented at diagnosis with monofocal, larger, more often infiltrative, and metastatic tumors than cirrhotic patients.

In NAFLD patients, a significant difference in survival was noted in obese and hypertensive patients compared with patients without HCC-associated comorbidities. The most valid scores in assessing patients at high risk of HCC were found to be BARD, which allows 69% of patients to be classified as high risk, and FIB-4, which classifies 72.2%, revealing no statistically significant difference in efficiency between the two scores ($p=0.65$). Factors independently associated with patient prognosis were found to be diagnosis in surveillance (HR=0.61, 95% CI, 0.37-1.00; $p=0.05$) and main treatment (with increasing mortality risk from curative therapies to progressively fewer radical therapies).

The epidemiological trend in the population of 935 S-MAFLD patients also increased over time, outpacing viral (HBV) and alcohol-related etiology. Non-cirrhotic S-MAFLD patients have larger and more frequently invasive and metastatic nodules than cirrhotic patients. The most valid scores, again, in non-cirrhotic patients were BARD and FIB-4, which were able to classify 63.1% and 74.2% of patients as high risk, respectively. In this cohort of patients, FIB-4 was significantly more effective than BARD in classifying patients at high risk of HCC occurrence (74.2% vs 63.1%; $p=0.02$). In S-MAFLD patients, no significant difference in survival was noted between patients with/without diabetes and hypertension, unlike in NAFLD patients. In S-MAFLD-HCC patients, the factors independently associated with survival were found to be main treatment, MELD (HR 1.07, 95% CI, 1.03-1.11; $P<0.0001$) and BCLC stage with increased risk going from lower to higher BCLC status.

Conclusions

The incidence of NAFLD-HCC and MAFLD-HCC is increasing and, according to the analysis of our data, from the ITA.LI.CA database, will tend to become the prevalent cause of HCC in Italy. The scores that are most efficient in classifying patients with high risk of HCC are FIB-4 and BARD for both NAFLD and S-MAFLD patient population, but in the latter, FIB-4 is more efficient significantly.

1. INTRODUZIONE

1.1 NAFLD: una malattia multisistemica

La NAFLD (non alcoholic fatty liver disease) è attualmente una tra le più comuni patologie epatiche diagnosticata nel 17-46% degli adulti. L'incidenza della NAFLD, diagnosticata sulla base dell'elevazione delle transaminasi e/o sulla base di un riscontro ecografico di steatosi, è del 20-86/1000 persone/anno.¹ È associata ad un aumento del rilascio di acidi grassi liberi (free fatty acids, FFA) dal tessuto adiposo a causa di un aumento del deposito di grasso viscerale e una conseguente incapacità di regolazione della lipolisi da parte dell'insulina. L'accumulo di FFA a livello epatico determina successivamente un deposito di trigliceridi come meccanismo protettivo di contenimento dei FFA.

La NASH (non-alcoholic steatohepatitis) è una patologia cronica e progressiva, caratterizzata dalla presenza di steatosi epatica ed infiammazione, che può determinare l'insorgenza di fibrosi, cirrosi e di epatocarcinoma (HCC). Dal punto di vista prettamente diagnostico, la biopsia epatica costituisce il gold standard. La NASH costituisce la progressione della NAFLD, tuttavia non si conoscono con certezza gli elementi coinvolti nel determinarne la progressione: probabilmente è dovuta ad una eziologia multifattoriale che vede coinvolti fattori ambientali e genetici. Inoltre, dismetabolismo, ipertensione e diabete mellito di tipo 2 hanno un ruolo nella progressione della patologia².

La NAFLD sta divenendo la causa più comune di cirrosi nel mondo Occidentale: l'introduzione dei direct acting virals (DAAs) nel trattamento del virus dell'epatite C (HCV) e una maggiore copertura vaccinale per il virus dell'epatite B (HBV) ha determinato una netta diminuzione dei casi di cirrosi ad eziologia virale³. Si tratta di una patologia multisistemica che coinvolge diversi organi e apparati incrementando il rischio di patologie cardiovascolari, metaboliche e di insufficienza renale cronica. Il decorso clinico della NAFLD può determinare un aumento del rischio di cirrosi e di insorgenza di epatocarcinoma. Tuttavia, nella maggior parte dei casi, la prognosi dei pazienti è determinata da una patologia cardiovascolare.

I meccanismi sottostanti l'insorgenza di epatocarcinoma nei soggetti con NAFLD non sono completamente compresi, ma probabilmente l'attivazione di determinate pathways, come la via di NF- κ B, PTEN e miRNA sono coinvolte nel meccanismo di insorgenza di HCC.

La NAFLD comprende un ampio spettro di presentazioni cliniche che vanno dalla semplice steatosi epatica, fino alla concomitante presenza di infiammazione e ballooning che definisce la NASH. Una proporzione di questi pazienti progredisce in fibrosi, alcuni in cirrosi ed epatocarcinoma.

L'incidenza di HCC nei pazienti con NAFL (non alcoholic fatty liver- senza necroinfiammazione e fibrosi) è molto rara, diversamente dall'incidenza di HCC nei pazienti con NAFLD, la quale è molto simile, epidemiologicamente, ad altre eziologie di cirrosi, come quelle di natura virale, con l'eccezione di quella secondaria al virus HCV, in quanto quest'ultima presenta un rischio maggiore. Dal punto di vista diagnostico, si ricorda per ottenere la diagnosi di NASH sia necessaria la conferma istologica, rendendo complessa la valutazione del rischio di insorgenza di HCC in questi pazienti.

1.1.2 Epidemiologia

Il rischio di insorgenza di HCC nei pazienti con epatopatia metabolica varia a seconda del danno a livello epatico: risulta molto simile alle altre eziologie di cirrosi nei pazienti con NAFLD-cirrosi, molto più raro nei pazienti con steatosi semplice e intermedio nei pazienti con NASH. L'incidenza di HCC nei soggetti con cirrosi correlata a NAFLD è di circa 10-15 su 1000 persone l'anno, comparabile all'incidenza di HCC nei pazienti con cirrosi di eziologia alcolica ma inferiore rispetto a quella di eziologia HCV correlata. La maggior parte degli HCC insorge in uno stadio di cirrosi, una minore percentuale può insorgere in pazienti in uno stadio di fibrosi. Alcuni studi hanno evidenziato come i casi di HCC correlato a NAFLD tenderanno ad aumentare in 8 Stati (come Cina, Giappone, Francia, Germania, Italia, Regno Unito ed USA) partendo da un aumento di circa il 47% in Giappone fino al 130% in USA. D'altra parte, i casi di HCC correlati ad HCV e ad HBV sono in diminuzione grazie alla profilassi vaccinale (nel caso di HBV) e alla

terapia antivirale (per HBV e HCV). Per tale motivo, l'HCC correlato alla NAFLD probabilmente diverrà la causa predominante di HCC nel 2030³.

1.1.3 Storia clinica e patogenesi

La steatosi semplice non è associata ad un aumento della mortalità a lungo termine, diversamente dalla NAFLD che, invece, determina una riduzione dell'aspettativa di vita con evoluzione a NASH predisponendo il fegato ad una possibile evoluzione a fibrosi e cirrosi con annesse complicanze. Uno studio effettuato su 147 pazienti che non presentavano alcuna evidenza ecografica di NAFLD, sottoposti ad osservazione per circa 7 anni ha evidenziato come 28 tra questi pazienti (circa il 19% del campione esaminato) abbia sviluppato NAFLD, inoltre, la maggior parte di loro presentava sindrome metabolica o una condizione di iperglicemia a digiuno. I pazienti che al follow-up presentavano un peggioramento della condizione clinica, evolvendo a NASH, tendenzialmente presentavano diagnosi di insulino-resistenza o di diabete mellito⁴. Molto probabilmente, la spiegazione a questo fenomeno può essere dedotta dal fatto che l'aumento della produzione di glicerolo e free fatty acids è dovuto ad una mancata capacità dell'insulina di bloccare il processo di lipolisi⁵⁻⁶. La dieta ipercalorica predispone alla lipogenesi de novo che contribuisce alla deposizione di trigliceridi a livello epatico con peggioramento della steatosi. Questo accumulo lipidico epatico ne stimola un danno cronico che attiva le cellule di Kupffer e le cellule stellate epatiche responsabili dell'insorgenza di fibrosi e di cirrosi epatica⁷. La lipotossicità determina stress a carico del reticolo endoplasmatico, stress ossidativo e disfunzione mitocondriale degenerando in infiammazione e degenerazione epatocitaria (ballooning) che sono le caratteristiche che definiscono la NASH⁸. Alcune evidenze cliniche suggeriscono che la prognosi dei pazienti con diagnosi di NAFLD sia determinata, oltre che dalla patologia epatica, anche da eventi cardiovascolari, particolarmente frequenti nei pazienti di età più avanzata.⁹

1.1.4 Fattori di rischio di HCC

Diversi studi hanno stabilito che i pazienti con HCC correlato alla NAFLD vengono diagnosticati in media 5-10 anni dopo i pazienti con HCC correlata ad altre

patologie epatiche; i pazienti con NAFLD presentano di solito comorbidità metaboliche come diabete di tipo 2, ipertensione, obesità. La diagnosi viene effettuata successivamente rispetto ai pazienti con altre eziologie probabilmente perché in questi pazienti non viene effettuata la sorveglianza, anche perché in alcuni casi non è presente una diagnosi di cirrosi sottostante. La NAFLD presenta gli stessi fattori di rischio dell'HCC come diabete mellito di tipo 2, sindrome metabolica, insulino-resistenza, obesità: quest'ultima tende ad essere associata all'insorgenza di molti tumori, ma presenta elevata associazione con il tumore epatico.

Sesso maschile, età avanzata, etnia Ispanica sono associati fortemente all'insorgenza di HCC nei pazienti con NAFLD, così come il fumo di tabacco. L'abuso alcolico è sicuramente individuato come fattore di rischio per l'insorgenza di epatocarcinoma in questi pazienti; un consumo >50g/die o 3-7 drink/die sono correlati ad un rischio maggiore.

La presenza di fibrosi è il più importante fattore di rischio associato allo sviluppo di HCC. La fibrosi epatica può essere diagnosticata istologicamente con biopsia oppure si può effettuare una stima con metodi non invasivi che consentono di individuare lo stadio della fibrosi attraverso la valutazione di esami bioumorali e morfologici (NAFLD-fibrosis score, FIB-4, BARD SCORE, APRI)¹⁰.

1.2 FATTORI DI RISCHIO E COMORBIDITA' NAFLD ASSOCIATI

I fattori di rischio della NAFLD comprendono sesso femminile, età maggiore di 50 anni, iperlipidemia, obesità, diabete, ipertrigliceridemia, tutti fattori facenti parte della cosiddetta sindrome metabolica. Anche l'ipertensione è coinvolta come fattore di rischio.

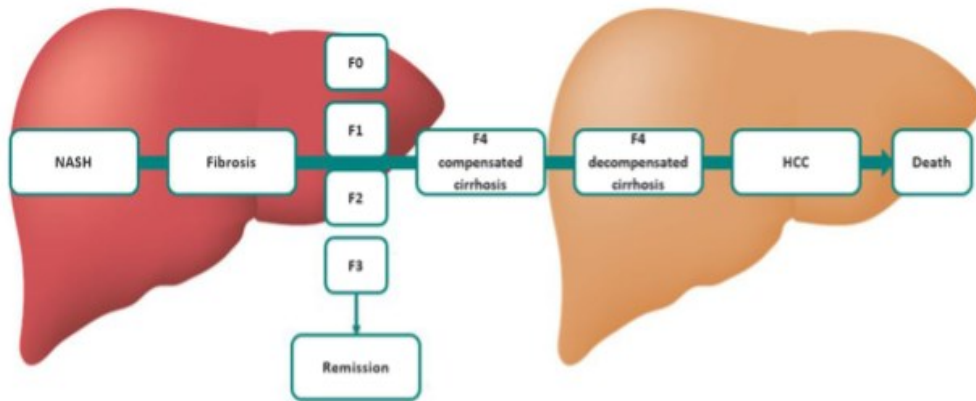


Fig. 1 NASH disease progression. F0/4 fibrosis stage 0/4, HCC hepatocellular carcinoma, NASH non-alcoholic steatohepatitis. Data adapted from Traussnigg et al.

1.2.1 Comorbidità associate alla NAFLD

Come si è descritto nei paragrafi precedenti, il gold standard per la diagnosi di NAFLD è rappresentato dalla biopsia epatica che, tuttavia, può non essere utile per effettuare una diagnosi di popolazione. Per tale motivo, test di screening meno invasivi, come ad esempio l'ecografia, TC e RMN stanno soppiantando la diagnosi bioptica. La NAFLD costituisce ormai una delle cause più frequenti di epatopatia cronica; è importante che vengano escluse cause secondarie di steatosi, come ad esempio un consumo alcolico <20 g/die nel sesso femminile e <30 g/die nel sesso maschile. Fattori che possono rafforzare la diagnosi di NAFLD, oltre l'esclusione di assunzione alcolica e di epatopatia virus correlata è la contemporanea presenza di sindrome metabolica con una condizione di insulino-resistenza. La sindrome metabolica è una condizione clinica caratterizzata dalla compartecipazione di diversi fattori che aumentano il rischio di insorgenza di patologie cardiovascolari e cerebrovascolari. Lo sviluppo della sindrome metabolica dipende sia dalla distribuzione che dalla quantità di grasso: si tratta principalmente di grasso viscerale (quando si traduce in un alto rapporto vita/fianchi, con un basso rapporto muscolo/grasso, che determina un aumento del rischio) e non sottocutaneo (con basso rapporto vita/fianchi e un rapporto muscolo/grasso più elevato). Questo accumulo di grasso viscerale si traduce con un aumento di acidi grassi liberi a livello della vena porta, e accumulo di lipidi epatico e muscolare. Vi è insorgenza di insulino-resistenza, iperinsulinemia, dislipidemie ed ipertensione. La maggior

parte delle volte viene diagnosticata a seguito della contemporanea presenza di >3 fattori di rischio tra: aumento del grasso addominale, ipertensione, una glicemia a digiuno elevata, ipertrigliceridemia, <HDL. Vi sono delle condizioni associate alla NAFLD come la sindrome dell'ovaio policistico, ipogonadismo, ipopituitarismo, OSAS (Sindrome delle Apnee ostruttive del sonno) e può essere secondaria ad una serie di cause come IBD (malattie infiammatorie intestinali), malattia di Wilson ed alcuni farmaci come amiodarone, corticosteroidi.

1.2.2 Obesità

La prevalenza dell'obesità nella popolazione NASH è compresa tra il 31 e il 95%. Per quanto riguarda la prevalenza della NASH nella popolazione obesa, invece, valutandola in 7 pubblicazioni, si è notato come sia più frammentata rispetto alla prevalenza di obesità in pazienti NAFLD. Risulta compresa tra il 14-94% con prevalenza e morbilità in pazienti obesi compresa tra il 15-30% e 33-70%.

1.2.3 Diabete mellito di tipo 2

La NAFLD comprende un ampio spettro di presentazioni cliniche che vanno dalla semplice steatosi ad una malattia più avanzata con morte epatocitaria, infiammazione e comparsa di NASH. La semplice steatosi determina un accumulo di lipidi a livello epatocitario; tuttavia, nonostante il danno non sia ingente, questa condizione clinica predispone ad altre patologie metaboliche come il diabete di tipo 2. La prevalenza della NASH nella popolazione diabetica si aggira intorno al 70%¹¹: si è evidenziato come sia maggiore nei pazienti diabetici, rispetto ai pazienti con diabete sottoposti a chirurgia bariatrica¹². Alcuni studi hanno valutato la correlazione tra diabete tipo 2 e NAFLD utilizzando semplici misure antropometriche e bioumorali: i livelli sierici di ALT e gGT e l'indice di fibrosi epatica sono stati utilizzati come marcatori per la NAFLD.

Un recente studio effettuato in Francia ha analizzato unicamente marcatori biochimici e ha rilevato una certa correlazione tra NAFLD e diabete tipo 2, indipendentemente da alcuni fattori confondenti¹². Tuttavia, non si può essere certi che i test di funzionalità epatica anormali siano dei buoni marker per la NAFLD, quindi si sono esclusi alcuni studi che consideravano a scopo diagnostico

solo parametri bioumorali come la rilevazione delle gGT: può essere un buon marker di stress ossidativo piuttosto che un marker specifico di malattia epatica indotta dalla NAFLD. In alcuni studi, valutando i certificati di morte di intere regioni italiane si è investigata l'eziologia di patologie epatiche croniche e la mortalità nei pazienti con DM2 (n = 167,621 individui diabetici di età compresa tra 30-89 aa): si è evidenziato come i pazienti diabetici abbiano un rischio più elevato di morte per patologia epatica cronica associata a NAFLD rispetto al resto della popolazione. Sebbene ci sia evidenza che la NAFLD determini un aumento del rischio di DM2 (diabete mellito di tipo 2), questo rischio dipende anche dalla severità della NAFLD⁵. L'insulino-resistenza promuove il processo di lipolisi del tessuto adiposo portando ad un aumento dei livelli di FFA nel sangue, assorbiti dal fegato in maniera indipendente dalla concentrazione. Anche l'iperinsulinemia e l'iperglicemia tendono a promuovere questo processo di conversione dei carboidrati in acidi grassi, a livello epatico, con un conseguente aumento della lipogenesi de novo: enzimi coinvolti in questa reazione sono aumentati nei pazienti con NAFLD, per tale motivo potrebbero essere target terapeutici¹².

1.2.4 Genetica ed epigenetica

Da alcuni studi si è evidenziato come solo una percentuale di pazienti sviluppi una infiammazione cronica: questa evidenza come la NAFLD sia una patologia multifattoriale determinata dalla compartecipazione di diversi fattori di rischio che coinvolgono l'ambiente e una certa suscettibilità poligenica che ne determina il fenotipo e ne induce la progressione. I parenti di primo grado di pazienti con NAFLD presentano un rischio maggiore rispetto alla popolazione generale: vi è una maggior concordanza in gemelli monozigoti che in eterozigoti. Una stima della fibrosi epatica, effettuata con risonanza magnetica elastografica, ha portato alla conclusione che questo tratto è ereditabile in circa il 50% degli individui¹⁰.

1.2.5 Variabilità interetnica

Alcuni studi epidemiologici hanno rilevato una certa prevalenza della NAFLD nell'etnica ispanica rispetto a quella africana che, invece, presenta un rischio inferiore ed è protetta dall'insulino-resistenza e fattori socioeconomici⁶³.

Negli ultimi anni si sono studiati diversi genotipi potenzialmente coinvolti nella NAFLD: la variante I148M PNPLA3 è stata identificata come la più frequente nel determinarne l'insorgenza. In PNPLA3 la sostituzione nella posizione 148 dell'isoleucina con la metionina (rs738409 C>G codificante per PNPLA3 I148M) codifica per questa variante coinvolta nel rimodellamento dei droplets lipidici. La variante wild type codifica per una proteina con attività idrolasica nei confronti dei trigliceridi e degli esteri retinilici; la sostituzione I148M induce una perdita di funzione dell'attività enzimatica, determinando intrappolamento dei trigliceridi e degli esteri retinilici in goccioline lipidiche negli epatociti e cellule stellate con conseguente aumento del rischio di insorgenza di fibrosi epatica. Quest'accumulo di mutazione I148M all'interno delle goccioline lipidiche impedisce la degradazione all'interno del proteasoma e inibisce l'attività di altre lipasi negli epatociti. Sono stati effettuati degli studi nei topi di knock-in della mutazione I148M e si è notato che tendevano ad accumulare grasso epatico successivamente ad un eccesso di carboidrati¹⁰. Invece, la variante rs2294918 codificante il E434K PNPLA3 modula l'espressione di PNPLA3 ed è associato ad uno status epatico migliore in pazienti con la mutazione I148M. Questi risultati sono utili in quanto suggeriscono che una down-regolazione di PNPLA3 I148M nei soggetti con NAFLD ne determini beneficio, l'omozigosi conferisce un rischio 10 volte maggiore rispetto alla popolazione generale. Si sono identificate delle varianti con effetti moderati con mutazioni di TM6SF2, MBOAT7 and GCKR: tutti questi geni codificano per proteine che sono coinvolte nel metabolismo lipidico. Il gene TM6SF2 codifica per una proteina transmembrana coinvolta nella secrezione delle VLDL; il polimorfismo rs58542926 C>T determina una perdita di funzione con un conseguente aumento dei livelli epatici di trigliceridi e riduzione di lipoproteine. È interessante come questi pazienti siano soggetti ad un maggior rischio di danno epatico rispetto ad una patologia cardiovascolare¹⁰.

Sono stati effettuati degli studi caso controllo CIT per evidenziare e dimostrare il ruolo di varianti genetiche nel metabolismo lipidico, insulino resistenza, fibrogenesi nella progressione della NAFLD. Il polimorfismo gain of function *ENPP1* K121Q (rs1044498), facilita l'interazione tra ENPP1 e il segnale di inibizione

del recettore insulinico; la loss-of-function *IRS1* G972R variant (rs1801278) è associata con una diminuzione del signalling insulinico intraepatico, un maggior grado di fibrosi in una larga coorte di pazienti con NAFLD.

1.2.6 Fattori epigenetici

L'epigenetica è caratterizzata dalla variazione del fenotipo non causato da una modifica nella sequenza del DNA. Le alterazioni epigenetiche possono essere trasmesse alla progenie; può essere utile nel comprendere la variabilità interindividuale fenotipica e possono essere il maggior determinante della progressione della patologia.

Un esempio del ruolo dei fattori epigenetici nella modulazione della suscettibilità individuale alla NAFLD è rappresentato dall'effetto dell'esposizione intrauterina ad una dieta ricca di grassi nei topi. L'esposizione intrauterina ad una dieta ricca di lipidi è associata, anche dopo la nascita, successivamente ad una esposizione a dieta lipidica, ad un accumulo più severo di grassi a livello epatico e il conseguente sviluppo di NASH¹⁰. Il danno epatico conseguente l'esposizione ad una dieta iperlipidica in età fetale interferisce in un'alterazione del ciclo cellulare epatocitario con induzione di p21 determinando un aumento della senescenza cellulare. Cambiamenti epigenetici dei livelli epatici di DNA possono essere associati ad una alterazione mitocondriale che può esitare in una deregolazione metabolica e del pathway di fibrogenesi. Nei soggetti obesi la NASH è associata ad una compromissione del signalling insulinico che è evidenziato parzialmente reversibile a seguito di chirurgia bariatrica. Un approccio terapeutico può essere rappresentato da una modulazione dell'attività enzimatica delle sirtuine deacetilasi, specificatamente della sirtuina 1: gli effetti benefici ricollegati all'attivazione di SIRT1 osservata in modelli animali si è rivelata associata alla modulazione dell'attività di PPAR α e ossidazione degli acidi grassi più che del rimodellamento della cromatina.

1.2.5.1 Ruolo dell'RNA non codificante

In diversi studi è stato dimostrato il ruolo della deregolazione di alcuni miRNA epatici: l'alterazione più frequentemente individuata è stata la downregolazione

di miRNA122, il più frequentemente espresso a livello epatico. In modelli murini studiati in vivo, la delezione di miRNA122 è associata a sviluppo di NASH e ad una progressione più rapida all'insorgenza di HCC. Vi è anche una induzione di fibrosi attraverso il pathway di HIF-1 α .

1.3 DIAGNOSI

Dal punto di vista clinico, la NAFLD è diagnosticata con tecniche radiologiche a seguito della rivelazione di accumulo di >5% di grasso epatico in assenza di ulteriori cause diagnosticate di steatosi epatica (quali alcool, virus, farmaci o fenomeni autoimmunitari). La biopsia epatica costituisce il gold standard per la diagnosi di questa patologia in quanto è l'unico metodo che consente di discernere tra la condizione di steatosi epatica e la NASH. Nonostante costituisca il gold standard diagnostico, specialmente per la diagnosi della NASH, la biopsia epatica potrebbe essere soppiantata, in futuro, da metodiche meno invasive ed utilizzabili su una larga scala, quale l'ecografia, la tomografia computerizzata, la risonanza magnetica e la risonanza spettroscopica magnetica. L'ecografia è una tecnica ben consolidata e conveniente per la diagnosi di steatosi epatica su una larga scala di popolazione; presenta una buona accuratezza per i casi di steatosi da moderata a severa, mentre è meno sensibile per i casi di steatosi più lievi¹³. La tomografia computerizzata non è appropriata per la popolazione generale, può essere utilizzata in specifiche situazioni cliniche come il trapianto di fegato. Ogni metodologia presenta i suoi vantaggi e svantaggi. Le metodiche che consentono di valutare il grado di stiffness epatica possono essere utili nell'individuare il grado di fibrosi e infiammazione nei pazienti con NAFLD.

1.3.1 Valutazione della NAFLD con l'ecografia

La steatosi epatica all'ecografia appare come un aumento diffuso dell'ecogenicità epatica: condizione definita "bright liver" a causa dell'aumento della riflessione degli echi del parenchima epatico determinato da un aumento intracellulare di vacuoli di grasso epatico. La valutazione della steatosi epatica con l'ecografia consiste in una valutazione qualitativa dell'ecogenicità epatica comparandola con quella renale, valutazione dell'eco penetrazione nella regione più profonda del fegato e la valutazione della chiarezza delle strutture vascolari epatiche. La

severità della patologia si definisce con una scala: normale (grado 0), lieve (grado 1), moderato (grado 2), severo (grado 3). La performance diagnostica dell'ecografia nel determinare steatosi epatica dipende dall'esatta definizione di steatosi e dalla presenza di una patologia epatica cronica. In quei pazienti in cui non coesiste una patologia epatica cronica, l'ecografia è utile nel discriminare le steatosi moderate-severe con sensibilità del 81.8-100% e specificità di circa 98%. La presenza di una sottostante fibrosi epatica riduce la sensibilità nel diagnosticare steatosi epatica. Alcuni degli svantaggi della ecografia sono l'operatore-dipendenza del risultato e la natura qualitativa del sistema di grading in quanto, quest'ultimo, anche se largamente utilizzato tende ad essere troppo semplicistico e rende difficoltosa la discriminazione delle piccole alterazioni visibili al follow-up. La US costituisce la metodica diagnostica più largamente utilizzata, tuttavia, non è utile nella discriminazione dei gradi più lievi di steatosi e successivamente l'intervento terapeutico¹³.

1.3.2 TC per la valutazione della steatosi epatica

La presenza della steatosi epatica alla TC si può identificare attraverso una attenuazione del parenchima epatico, valutabile attraverso la scala Hounsfield e dipendente dalla composizione epatica. Il valore di attenuazione del grasso è inferiore a quello dei tessuti molli. Molti studi hanno riportato comparabilità nella diagnosi effettuata con TC con e senza mdc, tuttavia, queste ultime sono preferite in quanto si evitano gli errori determinati dall'attenuazione del parenchima epatico a seguito della iniezione del mdc. La TC è utile per discriminare le forme di steatosi moderate e severe, risulta, invece, meno sensibile nelle forme lievi. Per valutare la steatosi epatica sono stati utilizzati diversi indici quantitativi della TC, i due più utilizzati sono il valore assoluto di attenuazione epatica (cioè HUliver) e la differenza di attenuazione tra fegato e milza (cioè CTL-S). L'HUliver è più prone ad errori, per questo motivo è stato stabilito un valore soglia generalizzato per la diagnosi di steatosi epatica, un intervallo di riferimento normale per CTL-S (1-18 HU) in fegati sani¹³.

1.3.4 Esami biumorali

Alcune indagini utili per escludere o accertarsi della diagnosi di NAFLD comprendono: ecografia epatica, valutazione degli enzimi epatici (transaminasi, gGT, fosfatasi alcalina). Molto spesso la diagnosi di NAFLD si accompagna ad ipertransaminasemia ed elevazione delle gGT, ipertrigliceridemia ed ipercolesterolemia, spia di sindrome metabolica. Bisogna comunque considerare i casi di pazienti con valori di enzimi epatici nei range di norma. In caso di sospetto di NAFLD, a seguito della rilevazione dell'incremento di questi esami bioumorali, può essere richiesta l'esecuzione di un'ecografia epatica che, in caso di steatosi conclamata, dimostra un fegato iperecogeno (il cosiddetto "bright liver"). L'ecografia non è utile nell'individuare la progressione del danno epatico verso la fibrosi a meno che non si rilevi la presenza di ipertensione portale.

1.3.5 Score diagnostici rilevanti nella diagnosi di NAFLD

Per poter valutare i pazienti candidabili ad essere sottoposti a follow-up per valutazione della presenza di fibrosi moderata-avanzata, possono risultare utili alcuni score elaborati a seguito della valutazione di algoritmi basati su parametri clinici e bioumorali. NAFLD Fibrosis Score e Fibrosis-4 (FIB-4) sono raccomandati dall'EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines come parte del regime diagnostico per la fibrosi avanzata. Altri score come l'APRI sono utilizzati nel predire la stadiazione della fibrosi; altri marcatori utilizzati sono l'ELF e il Fibroscan¹⁴.

1.3.5.1 NAFLD FIBROSIS SCORE

Il NAFLD Fibrosis Score (NFS) è uno score efficace nel distinguere, nei pazienti con NAFLD, la presenza di fibrosi severa (F3-F4) o non severa (F0-F2). La formula che consente di predire la severità della fibrosi epatica si basa su 6 variabili: età (in anni), BMI (kg/m^2), insulino-resistenza/diabete, AST/ALT ratio, conta piastrinica e albumina (g/dl). Sono stati selezionati due cut-off utili nel predire la presenza (>0.675) o assenza di fibrosi (<-1.455).

Valori <-1.455 sono indicativi di assenza di fibrosi significativa con un VPN 93%; valori >0.675 sono predittivi di fibrosi significativa (F3-F4) con un VPN 90%; per valori intermedi ($<-1.455-0.675$) lo score è indeterminato. Uno studio

effettuato in Giappone ha validato il NFS, trovando un'accettabile sensibilità, specificità, VPP e VPN per la fibrosi avanzata rispettivamente di 100%, 83%, 63%, and 100%¹⁵.

1.3.5.2 APRI SCORE

Il fattore prognostico più importante in caso di patologia epatica è lo stadio di fibrosi. Uno score utile in questo frangente è l'APRI (AST/Platelet Count Index) inizialmente utilizzato per l'individuazione del grado di fibrosi nei pazienti con epatite HCV correlata, successivamente associato alla diagnosi di fibrosi in pazienti con NAFLD. È fondamentale stratificare i pazienti in base al grado di fibrosi, in quanto correla con la prognosi stessa. I pazienti che presentano una semplice steatosi presentano una prognosi più favorevole rispetto ai pazienti con fibrosi più avanzata o cirrosi. Questi ultimi pazienti sono a rischio di prognosi più infausta con sviluppo di severe complicanze cardiovascolari ed epatocarcinoma. Il FIB-4 score era stato inizialmente considerato per la valutazione della fibrosi nei pazienti con epatopatia HCV correlata; solo successivamente è stato introdotto per la valutazione del grado di fibrosi nei pazienti con NAFLD. Diversamente dal NFS, l'APRI non è basato sulla rilevazione di parametri di tipo epidemiologico o clinico ma unicamente sull'AST/platelet count ratio. L'attività infiammatoria nei pazienti con NAFLD può risultare in una riduzione dei livelli di AST rispetto ai pazienti con infezione da HCV. L'APRI score differenzia con efficacia tra fibrosi avanzata e non nei pazienti con NAFLD, non è utile nel discriminare gli stadi intermedi di fibrosi, diversamente da quanto accade nei pazienti con epatopatia HCV correlata. Una metanalisi effettuata su 40 studi e per un totale di 8739 pazienti ha dimostrato che l'APRI score presenta un'area sotto la curva (AUROC) di 0,77 per la diagnosi di fibrosi moderata (F2), 0,80 per la fibrosi severa (F3) e 0,83 per la cirrosi¹⁶.

1.3.6.3 FIB-4 Score

Il FIB-4 score è uno score utilizzato e validato recentemente¹⁶, poco costoso, che consente di individuare il rischio di insorgenza di fibrosi in pazienti con diagnosi di NAFLD. Il calcolo si basa su diversi parametri quali età, transaminasi e platelet counts. Si sono identificati dei cut-off nei pazienti che presentano basso rischio di fibrosi avanzata (F3-F4): <1.3 nei soggetti con età inferiore ai 65 anni e <2 nei

pazienti di età superiore ai 65 anni. I pazienti con alto rischio di fibrosi avanzata, invece, presentano un cut-off >2.67 indipendentemente dall'età¹⁷. Uno studio effettuato su pazienti con NAFLD a seguito di un follow-up di 46 mesi ha evidenziato un aumento dell'incidenza di eventi cardiovascolari in coloro i quali presentavano valori di FIB-4 >2.67 o valori di NFS oltre il cut-off di 0.676. Con questi risultati si proponeva la valutazione della fibrosi epatica per ottenere la prognosi dei pazienti con patologia coronarica.

1.3.6.4 BARD Score

Il BARD score è basato sulla valutazione di tre diversi parametri a cui viene assegnato un punteggio, quali: rapporto AST/ALT >0.8 ; BMI ≥ 28 ; presenza di diabete mellito di tipo 2. Valori di BARD score di 0-1 presentano un elevato valore predittivo negativo di assenza di fibrosi o di fibrosi lieve-moderata, valori compresi tra 2-4 presentano un valore predittivo positivo di uno stadio F3-F4 di fibrosi. Uno studio effettuato su 126 pazienti polacchi con diagnosi di NAFLD ha comparato l'efficacia del NFS e del BARD score nella valutazione del grado di fibrosi epatica. La diagnosi di NAFLD è stata effettuata a seguito della rilevazione di $>5\%$ di steatosi epatica e a seguito dell'esclusione di ulteriori patologie epatiche croniche che potessero essere il razionale della comparsa di fibrosi. Il BARD score ha stratificato i pazienti in base al punteggio: 35 pazienti presentavano uno score >2 e 91 uno score <2 . Solo in 3 dei 91 pazienti con score <2 si è rivelato uno stadio avanzato di fibrosi, negli altri si trattava di fibrosi lieve/moderata. A seguito di questo studio la sensibilità e la specificità del BARD score si attestano intorno all'89%⁴².

Tabella I. Score di fibrosi: NAFLD fibrosis score, FIB-4 index, BARD score, APRI.

Score di fibrosi	Componenti dell'equazione	Cut-off di fibrosi avanzata
NAFLD fibrosis score	$-1.675 + 0.037 * \text{età (anni)} + 0.094 * \text{BMI (kg/m}^2) + 1.13 * \text{IFG/diabete (sì} = 1, \text{no} = 0) + 0.99 * \text{AST/ALT ratio} - 0.013 * \text{conta piastrinica (10}^9 \text{/L)} - 0.66 * \text{Albumina (g/dl)}$	<-1.455 (basso rischio), >0.67 (alto rischio) Età >65 anni-> <0.12 (basso rischio), >0.12 (alto rischio)
FIB-4 index	$\text{Età (anni)} * \text{AST [U/L]} / (\text{conta piastrinica [10}^9 \text{/L]} * (\text{ALT [U/L]})^{1/2})$	<1.30 basso rischio; >2.67 alto rischio; Età > 65 anni-> <2 basso rischio, >2 alto rischio
BARD score	AST/ALT $\geq 0.8 = 2$ punti BMI $\geq 28 = 1$ punto, Presenza di diabete = 1 punto Score va da 0 a 4 punti	<2 basso rischio; ≥ 2 alto rischio
APRI	$(\text{AST [IU/L]}) / (\text{AST limite superiore di normalità [IU/L]}) / (\text{conta piastrinica [10}^9 \text{/L]})$	<1 basso rischio; ≥ 1 alto rischio.

1.4 Prognosi e trattamento

La prognosi dei pazienti con NAFLD dipende dal grado di fibrosi, diagnosticata con le metodiche citate precedentemente, ed è correlata alla mortalità e alla necessità di eventuale trapianto di fegato. Risulta di difficile previsione la prognosi del paziente, importante è sicuramente un adeguato trattamento terapeutico che consenta una riduzione del grado di fibrosi.

Il trattamento della NAFLD prevede un ampio spettro di interventi che consistono nell'eliminazione dei fattori di rischio accertati: a partire da una modifica, un miglioramento, dello stile di vita del paziente con introduzione di una dieta ipocalorica, esercizio fisico e una diminuzione di almeno 7-10% del peso corporeo oltre alla limitazione dell'assunzione di alcool in quanto questo potrebbe determinare una accelerazione del peggioramento del grado di fibrosi e della condizione clinica del paziente⁶². Recentemente sono stati introdotti come uso off-label la vitamina E ad azione antiossidante e il pioglitazone (ipoglicemizzante appartenente alla famiglia dei tiazolidindioni con azione insulino-sensibilizzante). Molti altri trattamenti quali metformina, acido ursodesossicolico, glucagone, non si sono dimostrati efficaci in maniera significativa. Altri approcci terapeutici più

recenti prevedono l'utilizzo di inibitori di PPAR α : risultano promettenti ma sono in corso degli studi di fase 3 per confermarne l'efficacia. Nonostante l'apporto terapeutico, circa il 10% dei pazienti con NAFLD, progrediscono a NASH e di questi alla diagnosi di cirrosi epatica in un periodo di circa 20 anni.

1.5 Da NAFLD a MAFLD: una nuova denominazione

La NAFLD non costituisce un fattore di rischio per la sindrome metabolica, tuttavia, frequentemente i pazienti con sindrome metabolica presentano questa patologia. Si osserva una correlazione tra NAFLD e sindrome metabolica anche se non si è chiarito se la NAFLD sia una causa o una conseguenza della sindrome metabolica stessa. Recentemente sono state mosse delle critiche alla nomenclatura NAFLD come diagnosi di esclusione dall'assunzione eccessiva di alcool e di epatopatie correlate. Nel 2020, è stato suggerito di proporre una nuova denominazione per questa patologia sostituendo il termine NAFLD con MAFLD (metabolic dysfunction associated fatty liver disease). Questo ha consentito il passaggio da una diagnosi di esclusione ad una di inclusione¹⁸.

1.5.1 Criteri diagnostici della MAFLD

Il recente termine MAFLD ha consentito il passaggio da una diagnosi di esclusione (da epatopatie alcool e virus correlate) basata su tecniche di imaging e bioptiche ad una diagnosi di inclusione. La diagnosi si effettua in caso di presenza contemporanea di steatosi epatica valutata con metodiche di imaging, associata alla presenza di sindrome metabolica. Il termine MAFLD comprende uno spettro di definizioni che includono multipli subfenotipi ed un overlapping con epatopatie alcool o HCV correlate; degli studi hanno evidenziato come la MAFLD pura presenti una prognosi migliore rispetto alla MAFLD che si presenta assieme ad epatopatie alcool o virus correlate. Questo nuovo criterio diagnostico ha consentito i clinici di identificare uno spettro più ampio di pazienti a rischio di outcome avversi nella pratica clinica. La diagnosi si basa sulla presenza di steatosi epatica e la contemporanea presenza da 1 a 3 fattori di rischio quali obesità/sovrappeso (si considera un BMI > 25 kg/m²), diabete mellito e l'evidenza di disfunzione metabolica¹⁹. Quest'ultima è definita dalla presenza di almeno 2 su 4 criteri: livelli

di glucosio a digiuno tra 100-125 mg/dL o terapia antidiabetica; valori di trigliceridi superiori a 150mg/dL; HDL <40 mg/dL negli uomini e 50 mg/dL in terapia; pressione sanguigna >130/85 mmHg o trattamento antipertensivo¹⁹. Nella diagnostica più ampia, oltre a considerare fattori di rischio quali una condizione di iperglicemia a digiuno, ipertrigliceridemia, un calo di HDL, e ipertensione, si considerano anche un livello di PCR > 2mg/L e una circonferenza vita > 102/88 rispettivamente negli uomini e nelle donne caucasiche. Nella diagnosi possono essere compresenti da 1 a 3 fattori di rischio: un maggior numero di fattori di rischio metabolici associati alla diagnosi di MAFLD comportano una prognosi peggiore per il paziente. Si è evidenziato come i pazienti con diagnosi di MAFLD associata alla presenza di un solo fattore di rischio metabolico siano più giovani, presentino un maggior abuso alcolico rispetto ai pazienti con MAFLD associata a multipli fattori di rischio metabolici e un BMI inferiore. Inoltre, i pazienti con MAFLD diagnosticata a causa di diabete di tipo 2 sono più anziani e presentano un grado di fibrosi più grave rispetto ai pazienti diagnosticati a seguito di un elevato BMI o sindrome metabolica. Tuttavia, l'elevato grado di fibrosi epatica riscontrata maggiormente nei pazienti diabetici potrebbe essere associata al cronico peggioramento e deterioramento della condizione epatica del paziente a causa dell'età avanzata. Probabilmente l'impatto dell'insulino-resistenza può essere un valido motivo che può spiegare l'esacerbarsi del grado di fibrosi¹⁹.

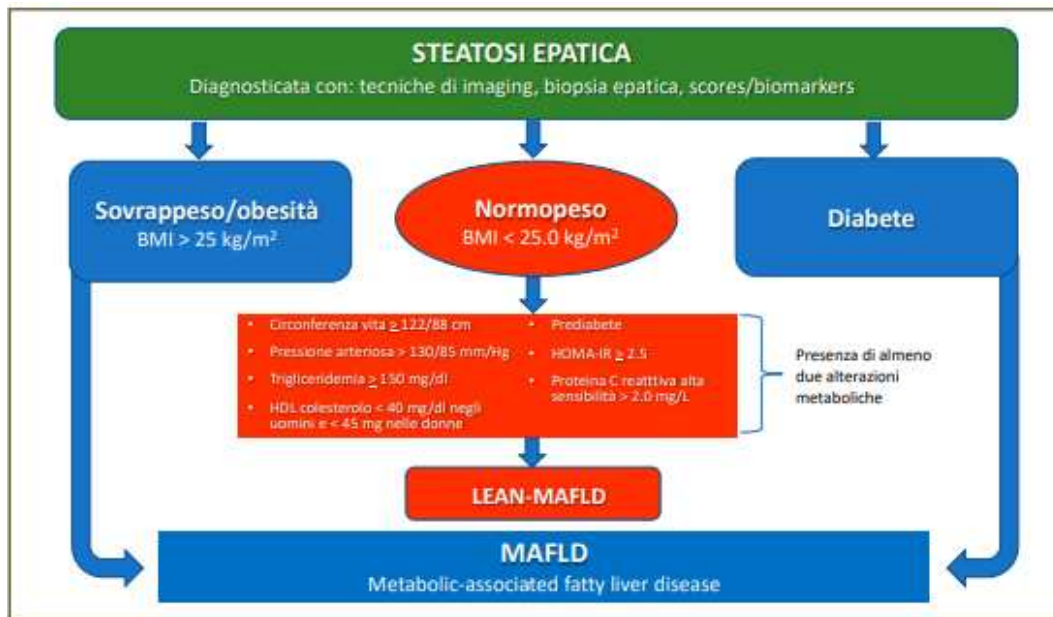


Fig.2 Criteri diagnostici proposti per la diagnosi di MAFLD¹⁷

1.5.2 Prognosi ed evoluzione

La prognosi dei pazienti con MAFLD, così come quella dei pazienti con NAFLD, non è totalmente chiara, in quanto dipende da una diminuzione del grado di fibrosi epatica a seguito della modifica ed eliminazione di fattori di rischio metabolici oltre l'abolizione dell'assunzione di alcool che potrebbe determinare un rapido esacerbarsi del grado di fibrosi. La MAFLD, così come la NAFLD, quindi, predispone ad una evoluzione verso la cirrosi epatica e alla diagnosi di epatocarcinoma che costituisce il più frequente tumore epatico.

La cirrosi associata MAFLD è stata successivamente sottoclassificata in S-MAFLD (MAFLD ad eziologia singola; diagnosi di cirrosi associata a MAFLD in assenza di altre eziologie addizionali); M-MAFLD (MAFLD ad eziologia mista, comprende pazienti con MAFLD, diagnosticata secondo i criteri definiti precedentemente, associata a fattori eziologici addizionali come epatopatia virus correlata o assunzione di alcool)¹⁹.

1.6 Cirrosi epatica

La cirrosi è una malattia a lenta progressione, largamente diffusa nel mondo, costituisce lo stadio finale di tutte le patologie epatiche indipendentemente dall'agente eziologico che ne ha determinato l'insorgenza. Il fegato può essere

danneggiato ripetutamente a causa di diversi agenti eziologici e presenta un'elevata capacità di autorigenerazione. Se i danni sono gravi e ripetuti, spesso la capacità rigenerativa del fegato non è sufficiente a riparare i danni, determinando la sostituzione del parenchima epatico con un tessuto cicatriziale che non presenta alcuna funzione⁶³. La funzionalità epatica risulta compromessa con una minor efficacia del metabolismo delle tossine e farmaci, della bile, riduzione del processo di protidogenesi dei fattori della coagulazione, con conseguente aumento del tempo di sanguinamento, e dell'albumina. La cirrosi si sviluppa tipicamente attraverso dei processi infiammatori e pro-fibrotici a livello del parenchima epatico, nel quale l'alterata deposizione e accumulo di tessuto connettivale ne impedisce un corretto funzionamento.

1.6.1 Epidemiologia

Oltre 2 milioni di decessi nel mondo, ogni anno, possono essere attribuiti a malattie epatiche. Le epatopatie croniche stanno divenendo un'emergenza epidemiologica: dati del Global Burden of Disease stimano che nell'anno 2016 vi siano stati 1.256.850 di decessi, nel mondo, per cirrosi epatica. Si stima che nel 2040, probabilmente, vi sarà un aumento del 50% dei decessi per cirrosi epatica.

1.6.2 Fattori di rischio

Sono stati individuati alcuni fattori di rischio coinvolti nel processo di evoluzione a cirrosi: le cause principali sono ascrivibili ad epatopatie croniche. Tra queste ultime le più frequenti sono quelle correlate eziologicamente ad HBV (CHB); HCV (CHC); NAFLD/NASH e le forme di steatosi e steatoepatite alcol-correlate. Altre cause comprendono le forme di epatopatia autoimmune (epatite autoimmune, cirrosi biliare primitiva e colangite sclerosante); disordini metabolici (morbo di Wilson, emocromatosi, deficit α 1 antitripsina etc.) e cause vascolari (sindrome Di Budd Chiari).

Bisogna considerare che, spesso, in un singolo paziente possono essere compresenti più fattori di rischio che partecipano all'evoluzione dell'epatopatia cronica in fibrosi e successivamente a cirrosi. È fondamentale l'eliminazione di questi fattori di rischio: per quanto riguarda l'epatopatia alcool correlata mediante una cessazione del consumo di alcolici, la vaccinazione contro

HBV, una diminuzione del peso corporeo in pazienti con NAFLD/MAFLD, l'eradicazione del virus dell'epatite C (HCV)²⁴.

1.6.3 Patogenesi

Nell'evoluzione di una patologia epatica, la prima causa di insorgenza di epatopatia può essere determinata da un'epatite acuta che può guarire o cronicizzare. I marcatori bioumorali che devono essere considerati per monitorare un eventuale danno epatico sono gli indici di citolisi (AST e ALT) e gli indici di colestasi (ALP, γ GT). Nel caso di danno prolungato, che non va incontro ad un processo di guarigione, il danno epatico può esitare in insorgenza di fibrosi, un tessuto connettivale che riduce la capacità del fegato di effettuare le sue funzioni. Nel caso in cui non vi fosse una remissione della condizione di fibrosi, questa condizione clinica potrebbe esacerbare fino alla comparsa della cirrosi epatica. La fibrosi costituisce l'endpoint principale della valutazione della prognosi del paziente: uno studio effettuato da alcuni ricercatori del Karolinska Institute di Stoccolma, ha dimostrato come gradi di fibrosi più elevati (F2-F3) siano associati ad un outcome peggiore rispetto ai pazienti con grado di fibrosi più lieve (F0-F1). La fibrosi è caratterizzata dalla progressiva deposizione di collagene nel fegato, il principale responsabile delle anomalie strutturali e funzionali. È una condizione clinica dinamica e potenzialmente reversibile, almeno nei primi stadi, in cui vengono attivati i processi di rimodellamento tissutale. Le epatopatie croniche, indipendentemente dall'eziologia, tendono a restare asintomatiche frequentemente, per questo motivo la diagnosi potrebbe essere effettuata tardivamente rendendo più complesso il processo di miglioramento del quadro di fibrosi. Nonostante vi sia stata l'introduzione dei farmaci che hanno aiutato nel trattamento ed eradicazione delle epatopatie HCV correlate, non vi è stata una riduzione dell'incidenza di cirrosi, indipendentemente dell'eziologia, in quanto vi è stato un sostanziale aumento delle diagnosi di cirrosi correlate ad eziologia metabolica e un mantenimento delle diagnosi di cirrosi alcool-correlate²².

La fibrosi è caratterizzata da un eccesso di deposito di matrice extracellulare, coinvolgendo il collagene di tipo 1 e 2, associato ad una infiammazione cronica. Il sottostante processo di infiammazione stimola gli epatociti, coinvolgendo

l'attivazione contemporanea di fenomeni pro e antinfiammatori grazie al reclutamento di macrofagi e di monociti, stimolando la risposta attraverso la produzione di ulteriori chemochine e citochine. Tra queste ultime, fondamentale e coinvolto nel processo di fibrosi, è TGF β , attivato dagli stessi macrofagi, attiva la differenziazione delle cellule stellate in miofibroblasti. La produzione di noduli di rigenerazione, lo sviluppo di ipertensione portale indicano un precoce danno epatico che si considera irreversibile. La regressione della fibrosi è associata ad una inattivazione o apoptosi delle cellule staminali totipotenti (HSCs) e dei miofibroblasti. La risoluzione della cicatrice fibrotica è mediata dai macrofagi che secernono enzimi di degradazione della collagenasi. Questo tipo di macrofagi viene denominato SAM (macrofago associato alla cicatrice) e presentano un fenotipo diverso dai macrofagi M1 ed M2²⁵.

1.6.5 Storia clinica della cirrosi

La patologia, almeno nelle fasi iniziali, è tipicamente asintomatica ed indolente ed è definita compensata. Molti di questi pazienti non giungono all'attenzione clinica e la diagnosi di cirrosi avviene solo a seguito dell'autopsia²⁶. Per questo motivo risulta complesso effettuare una diagnosi precoce, spesso viene effettuata accidentalmente attraverso test di screening o esami bioumorali, come la valutazione dei livelli di transaminasi o l'esecuzione di metodiche di imaging. Altre volte viene diagnosticata a seguito della comparsa delle complicanze quali il sovertimento della microcircolazione epatica e l'insorgenza di ipertensione portale che determinano il quadro di cirrosi scompensata. Questo quadro clinico causa un aumento del rischio di ospedalizzazione e della mortalità²⁴. Pazienti con cirrosi epatica compensata hanno un rischio del 2-7% di scompenso e del 1-7% per anno di sviluppo di epatocarcinoma.

La cirrosi è caratterizzata da una progressiva e diffusa necrosi epatocitaria che conduce alla perdita della normale architettura lobulare epatica con la formazione di noduli epatocitari circondati da tessuto connettivo. Questo processo determina una riduzione della funzionalità epatica, una distorsione del parenchima epatico con una alterazione della vascolarizzazione con conseguente sviluppo di shunt porto-sistemici. La sede in cui per prima tende a depositarsi la fibrosi è attorno ai

sinusoidi epatici, capillari fenestrati che consentono i processi di scambio tra il tessuto epatico e il sistema portale. A seguito della comparsa della fibrosi, vi è un'alterazione a carico di questi capillari che perdono le fenestrazioni e divengono capillari veri e propri, alterando il processo di scambio dei nutrienti. Se l'epatocita rimane funzionalmente attivo, la cirrosi non va ad impattare sulle funzioni epatocitarie; nel momento in cui la cirrosi diviene scompensata, invece, compaiono insufficienza epatica e ipertensione portale.

Tra le complicanze della cirrosi e della conseguente ipertensione portale vi sono la comparsa di varici esofagee, ascite, peritonite batterica spontanea e la comparsa di encefalopatia epatica.

1.6.5 Test biumorali

I test biumorali in pazienti con cirrosi epatica sono fondamentali per un corretto follow-up terapeutico per evitare l'insorgenza o l'esacerbarsi delle complicanze. I valori delle transaminasi, almeno nelle fasi iniziali, possono risultare nella norma o solo lievemente aumentati: vi può essere un aumento dell'ALP e delle gGT (più specifico). L'aumento della bilirubina avviene solo successivamente l'aumento delle gGT e dell'ALP, tuttavia, è importante come predittore di mortalità. L'albumina e il tempo di protrombina tendono a ridursi nella cirrosi avanzata come simbolo della diminuzione della protidogenesi. Si può osservare anemia macrocitica, normocitica o microcitica a causa del deficit di folati, tossicità diretta mediata dall'alcool e per sanguinamento gastroenterico²⁶.

1.6.6 Diagnosi

La diagnosi strumentale della cirrosi epatica si può avvalere dell'esame ecografico che, associato al doppler dei vasi addominali, può valutare il diametro della vena porta direttamente all'ilo, risulta patognomonico un diametro >12mm. L'utilizzo della metodica doppler presenta una maggiore sensibilità in quanto consente di valutare la circolazione epatopeta o epatofuga nel vaso. L'EGDS può essere utile nel valutare e monitorare eventuale presenza, all'interno dell'esofago, di varici esofagee che possono svilupparsi ed esacerbarsi in caso di ipertensione portale. Altro esame fondamentale è il cateterismo delle vene sovraepatiche: costituisce una metodica diagnostica molto precisa; consiste nell'introduzione di un catetere

per via femorale che si fa risalire fino a livello della vena epatica. In questo modo si può calcolare la pressione libera (FHVP free hepatic vein pressure), mantenendo aperto il catetere, oppure si può ottenere la pressione pesata della vena epatica (Wedge Hepatic Vein Pressure). La differenza tra queste due pressioni misura il gradiente (HVPG Hepatic Vein Pressure Gradient) esistente tra la vena porta e la vena cava inferiore, corrispondente alla pressione sinusoidale. La diagnosi di ipertensione portale si pone quando è presente un gradiente $>5\text{mmHg}$, anche se la patologia diviene clinicamente rilevante quando $\text{HPVG} > 10\text{mmHg}$, divenendo ancora più significativo quando supera i 12 mmHg .

Attualmente il trattamento della cirrosi e delle sue complicanze consente un miglioramento della qualità di vita, evitando che vi sia una progressione della patologia epatica che richiederebbe, come unica alternativa terapeutica, il trapianto di fegato.

1.6.7 Valutazione del rischio di scompenso

Per poter valutare il rischio di scompenso del paziente cirrotico, ci si avvale di alcuni score, tra cui quelli maggiormente utilizzati sono il Child-Turcotte-Pugh (CTP) Score e il MELD. Il Child Pugh Score fu inizialmente utilizzato per predire il rischio operatorio per i pazienti con varici esofagee in corso di sanguinamento. L'intervento consisteva in una derivazione di shunt porto-cavale per ridurre l'ipertensione portale. In principio questo score valutava 5 parametri tra cui ascite, encefalopatia epatica, stato nutrizionale, bilirubina totale e albumina. Successivamente si è sostituita la valutazione dello status nutrizionale del paziente con l'INR²⁷.

A seconda del valore assegnato a ciascuno dei 5 parametri si attribuisce un punteggio sulla base del quale si formulano le tre classi: Classe A (5-6 punti), pazienti con rischio inferiore, classe B (7-9 punti) pazienti a rischio intermedio, classe C (10-15 punti) pazienti a rischio elevato. Ad oggi, questo score è utilizzato per calcolare la probabilità di sopravvivenza del paziente e la sua eleggibilità al trapianto.

Tabella II: Child-Pugh Score.

Clinical and Lab Criteria	Points*		
	1	2	3
Encephalopathy	None	Mild to moderate (grade 1 or 2)	Severe (grade 3 or 4)
Ascites	None	Mild to moderate (diuretic responsive)	Severe (diuretic refractory)
Bilirubin (mg/dL)	< 2	2-3	>3
Albumin (g/dL)	> 3.5	2.8-3.5	<2.8
Prothrombin time			
Seconds prolonged	<4	4-6	>6
International normalized ratio	<1.7	1.7-2.3	>2.3
Child-Turcotte-Pugh Class obtained by adding score for each parameter (total points)			
Class A = 5 to 6 points (least severe liver disease)			
Class B = 7 to 9 points (moderately severe liver disease)			
Class C = 10 to 15 points (most severe liver disease)			

Negli anni '90, il Child Score è stato sostituito da un modello matematico più complesso definito MELD score che assegna un valore numerico che predice la mortalità a tre mesi nei pazienti con cirrosi in lista d'attesa per trapianto di fegato. I parametri presi in considerazione sono la bilirubina, l'INR, e la creatinina in quanto si è evidenziato come la funzionalità renale sia uno dei fattori che tende ad impattare maggiormente sulla sopravvivenza del paziente cirrotico. I valori di MELD variano da 6 a 40: quando è basso il rischio di mortalità in lista di attesa si attesta al 20%, quando è più alto la mortalità aumenta. Si è notato che quando il MELD supera il valore di 20, si ha drastico calo della sopravvivenza dal 90% al 66%, da questo momento in poi si inizia a valutare il paziente per l'inserimento nella lista trapianti.

1.6.8 Complicanze della cirrosi epatica

Le più frequenti complicanze della cirrosi epatica sono ascite, encefalopatia epatica, idrotorace, carcinoma epatocellulare.

1.6.8.2 Ipertensione portale

Con il termine ipertensione portale si intende una condizione clinica caratterizzata da un aumento del regime pressorio del sistema venoso portale secondario ad un aumento delle resistenze nella circolazione della vena porta. La vena porta origina dalla confluenza della vena mesenterica superiore, inferiore e della vena splenica

e costituisce un sistema ad alta capacitanza, in quanto drena la maggior parte del sangue proveniente dalla cavità addominale, e bassa resistenza a causa delle caratteristiche intrinseche dei sinusoidi epatici che devono essere perfusi lentamente per consentire gli scambi tra gli epatociti attraverso lo spazio del Disse. Il principale fattore scatenante l'ipertensione portale è il sovertimento della normale struttura del parenchima epatico causato dalla cirrosi: l'apposizione di tessuto fibrotico e di noduli rigenerativi, il processo di capillarizzazione dei sinusoidi epatici, provocano un aumento della resistenza vascolare intraepatica. Il sistema portale provvede al 75-80% della circolazione epatica. L'ipertensione portale si può classificare in preepatica, epatica e postepatica: le forme preepatica o postepatica si sviluppano primariamente a causa di un aumento della resistenza al flusso nei vasi, in accordo con la legge di Ohm. La fisiopatologia dell'ipertensione portale per cause intraepatiche, invece, è meno intuitiva: è dovuta certamente ad una modificazione a carico del parenchima epatico, il quale risulta sovertito a causa dell'apposizione di tessuto fibrotico, microtrombi, noduli rigenerativi, in accordo alla clinica della cirrosi. Le cellule sinusoidali epatiche producono, in condizioni di fegato sano, sostanze vasoattive vasodilatatrici come NO, monossido di carbonio, e prostaglandina E2 e sostanze vasocostrittrici come endotelina-1, angiotensina II, leucotrieni e norepinefina. Nel corso di patologia epatica si riduce la produzione di sostanze vasodilatatrici con un conseguente aumento della produzione di sostanze vasocostrittive determinando un rilassamento endoteliale inappropriato³⁰. Per ridurre la pressione all'interno del sistema portale, l'organismo crea dei circoli collaterali venosi porto sistemici: agiscono deviando il sangue dal fegato. In questo modo meno sangue raggiunge il fegato in condizioni iperdinamiche, tuttavia, le sostanze tossiche di natura intestinale, non vengono drenate all'interno della vena porta ma direttamente all'interno del circolo sistemico favorendo l'insorgenza di encefalopatia epatica. L'obliterazione vascolare dovuta alla formazione di tessuto cicatriziale durante il rimodellamento dei tessuti e la formazione di cicatrici contribuisce per circa il 70% all'aumento della resistenza epatica. Le cellule stellate epatiche attivate, responsabili dell'eccessiva produzione di matrice extracellulare, promuovono la formazione di tessuto cicatriziale, sostituendo il tessuto epatico con fibrosi. Il 30% dell'aumento

della resistenza epatica è dovuto alla contrazione delle cellule stellate attivate e delle cellule muscolari lisce modulate da una serie di vasocostrittori³¹. I livelli di angiotensina, un potente vasocostrittore del sistema RAAS, sono aumentati nei pazienti cirrotici aumentando la proliferazione delle cellule stellate epatiche e la costrizione dei sinusoidi epatici aumentando l'espressione dei recettori dell'angiotensina II. Nei pazienti cirrotici la vasodilatazione è promossa dalla sovrapproduzione locale di vasodilatatori che provocano l'attivazione di un sistema di compenso fisiologico, il sistema RAAS, con un aumento dello stimolo sodioritentivo. I meccanismi di compenso determineranno ipervolemia che non sarà sufficiente a compensare il quadro di ipovolemia relativa, favorendo l'instaurarsi di un circolo che aggraverà l'ipertensione portale stessa.

1.6.8.3 Ascite

Una delle complicanze più frequenti dell'ipertensione portale è l'ascite; il meccanismo che comporta l'insorgenza di questa complicanza è di natura multifattoriale: la disfunzione circolatoria caratterizzata da vasodilatazione e ipotensione arteriolare, un aumento dell'output cardiaco e della ritenzione di sodio e di acqua. La vasodilatazione arteriosa splanchnica non determina soltanto un'alterazione della dinamica sistemica e renale ma anche quella del circolo splanchnico stesso. L'iperafflusso splanchnico comporta un'eccessiva produzione linfatica rispetto alla capacità drenante del sistema linfatico: questo processo determina l'accumulo di liquidi in cavità addominale con un peggioramento dell'ascite a causa della ritenzione di sodio e acqua a livello renale. Nell'ipertensione portale si può verificare una traslocazione batterica e il rilascio in circolo di prodotti batterici di origine intestinale secondario ad un aumento della permeabilità intestinale, con la conseguente liberazione di citochine proinfiammatorie. Queste ultime da un lato determinano una disfunzione cardiaca, dall'altro vasodilatazione splanchnica che partecipano alla riduzione del volume circolante, l'attivazione di fattori vasocostrittori e sodioritentivi favorendo l'ascite. L'ascite si può classificare in complicata e non complicata in base alla risposta alla terapia che consiste nel riposo in caso di ascite lieve, riduzione della quantità di sodio e dei liquidi assunti; fondamentale il monitoraggio

del peso. Si può effettuare una terapia diuretica, inizialmente con antagonisti dell'aldosterone, tra cui lo spironolattone, effettuando un contemporaneo controllo del peso e degli elettroliti in quanto è fondamentale che vi sia un calo ponderale graduale e non drastico per evitare un peggioramento delle condizioni cliniche del paziente. Nel caso in cui questo diuretico non fosse efficace si può sostituire con un diuretico dell'ansa (furosemide), inizialmente ad una dose bassa, tendendo ad aumentare la dose in caso di mancata risposta, fino ad un massimo di 160mg/die. Si può ricorrere alla paracentesi evacuativa, utilizzando dei plasma expander o albumina per ridurre il rischio di insufficienza renale. Il posizionamento di TIPS (Shunt portosistemico intraepatico transgiugulare) e il trapianto di fegato costituiscono ulteriori approcci terapeutici. Le complicanze dell'ascite sono la peritonite batterica spontanea (PBS), idrotorace, sindrome epatorenale ed epatopolmonare³².

1.7 Carcinoma epatocellulare

1.7.1 Epidemiologia e fattori di rischio

L'epatocarcinoma è il più comune cancro epatico; dal punto di vista epidemiologico costituisce la sesta forma più frequente di cancro e la seconda causa di morte cancro-correlata³³. L'incidenza risulta molto elevata nel Sud-Est Asiatico e nell'Africa SubSahariana (circa 120 su 100 mila abitanti), mentre in Europa e in Nord America è inferiore (3-4 su 100 mila abitanti). Nel 90% dei casi insorge come complicanza di una cirrosi epatica sottostante, diversamente dal Sud-est Asiatico in cui, frequentemente, insorge ancor prima dell'instaurarsi della cirrosi, a causa della compartecipazione di due cofattori: aflatossine (da *aspergillus flavus*) e infezioni virali (HBV). Sono maggiormente colpiti i soggetti di età avanzata, circa 55-60 anni, presentando una prognosi infausta: i dati più recenti stimano una sopravvivenza a 5 anni del 15%. Attualmente la NAFLD sta divenendo la causa più frequente di epatocarcinoma negli USA, Francia e UK, a causa dell'aumento dell'incidenza di soggetti obesi e con sindrome metabolica. L'incidenza annuale, stimata nei pazienti con cirrosi secondaria a NASH, è compresa tra lo 0.5-2.6%; nei pazienti con NASH non cirrotica, invece, è stimata

attorno 0.1-1.3/1000 pazienti-anno. La diagnosi di HCC secondaria a NAFLD tende ad essere più tardiva rispetto ai pazienti con HCC ed epatopatia virale (72 anni rispetto ai 66 in pazienti HCV+ e i 70 in HBV+). Inoltre, la diagnosi è effettuata ad uno stadio più tardivo della patologia e con una prognosi più infausta: questo è dovuto ad un fallimento diagnostico di una sottostante cirrosi (a causa di mancanza di screening) o assenza di cirrosi³.

Altri fattori di rischio che possono essere coinvolti nell'insorgenza di epatocarcinoma sono: infezione da HBV, HCV, abuso alcolico, sesso maschile. L'introduzione dei nuovi farmaci per la cura dell'infezione da HCV ha ridotto in maniera consistente il rischio che si sviluppi epatocarcinoma: il calo di incidenza si è ridotto dal 60% circa al 40%. Non è avvenuto lo stesso con l'infezione da HBV, in quanto l'introduzione della vaccinazione anti-HBV ha consentito di ridurre ma di non azzerare il rischio.

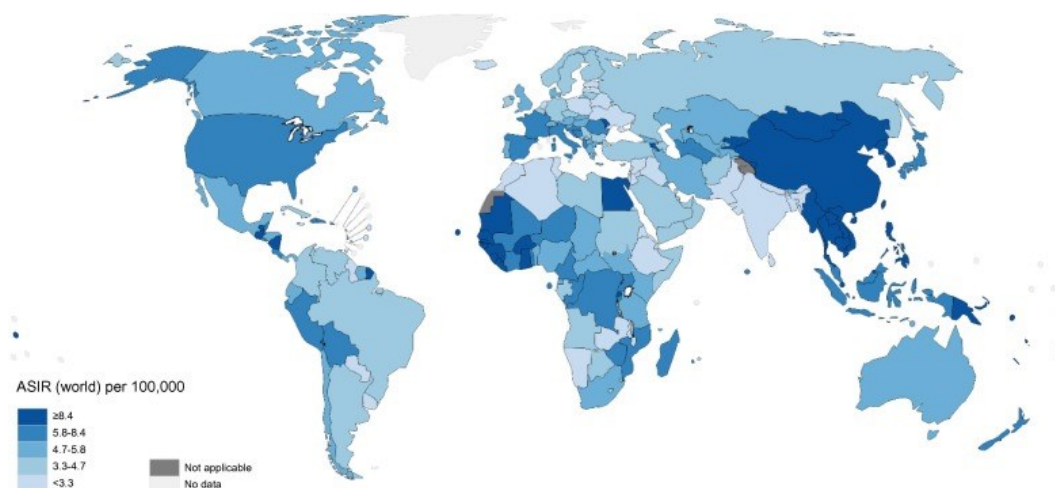


Fig. 3 Incidenza HCC nel mondo standardizzata per età **2018**. Data source: GLOBOCAN 2018. Graph production: IARC (<http://gco.iarc.fr/today>), World Health Organization. Accessed 24 October 2019. ASIR, age-standardized incidence rate; HCC, hepatocellular carcinoma

1.7.2 Sorveglianza

I programmi di sorveglianza dell'HCC hanno lo scopo di effettuare una diagnosi precoce per consentire l'utilizzo di terapie a scopo curativo e di conseguenza il miglioramento della sopravvivenza. Si stima che 1/3 dei casi di cirrosi sviluppa HCC nel corso della vita con un'incidenza annuale di 1-8% evidenziata con studi di follow up⁴⁰. L'incidenza sembra essere minore nella cirrosi alcool correlata e NASH

correlata rispetto alle forme virali. Uno studio effettuato su 4235 pazienti con diagnosi di NASH⁴⁰ ha rilevato un'incidenza di HCC di circa 1,6 su 100 persone/anno. I pazienti con diagnosi di NASH hanno un rischio aumentato rispetto i pazienti con NAFLD di diagnosi di HCC; tuttavia, l'elevata incidenza di NAFLD la rende un fattore di rischio importante. Circa un quarto dell'HCC correlato alla NASH insorge in fegati non cirrotici; valutando la stessa coorte di pazienti, solo lo 0.008 su 100 persone/anno tendeva a sviluppare epatocarcinoma con NAFLD non cirrotica. I pazienti in cui viene effettuata una diagnosi precoce di epatocarcinoma presentano una prognosi migliore rispetto ai pazienti in cui viene effettuata una diagnosi più tardiva in quanto consente di attuare dei trattamenti curativi. Per questo motivo programmare una sorveglianza è indispensabile, identificando la popolazione a rischio, i test ottimali e l'intervallo di sorveglianza. Devono essere presenti determinate condizioni affinché la sorveglianza determini una riduzione della mortalità: il rischio di epatocarcinoma deve essere sufficientemente elevato da giustificare una sorveglianza, inoltre questi test devono consentire una diagnosi di HCC in una fase precedente rispetto a quella che si presenterebbe in caso di sintomatologia⁴⁰. Uno studio randomizzato a sostegno della sorveglianza dell'epatocarcinoma con un approccio ecografico semestrale, condotto su circa 18 mila pazienti cinesi, ha rivelato una riduzione del 37% del rischio di mortalità dei pazienti sottoposti allo screening. Il follow up prospettico effettuato in pazienti con patologia epatica compensata ha rilevato una maggior probabilità di diagnosi precoce di epatocarcinoma in quei pazienti che rispettavano l'intervallo di screening semestrale rispetto ai pazienti meno complianti. L'ecografia addominale è raccomandata secondo le linee guida EASL come test di sorveglianza primario: presenta tuttavia una sensibilità esigua per la rilevazione di epatocarcinoma in fase precoce. Si è rivelata, inoltre, una riduzione della sensibilità ecografica nei pazienti con sindrome metabolica, con obesità viscerale, ed eziologia non virale. A causa della bassa sensibilità dell'ecografia nel rilevare un focus di epatocarcinoma in stadio precoce e del limite dell'operatore dipendenza, sono stati effettuati degli studi comparando la metodica ecografica con la TC. Si è rivelata una maggiore sensibilità della TC rispetto alla metodica ad ultrasuoni; tuttavia, questa metodica di imaging presenta costi maggiori.

Recentemente è aumentato l'interesse nei confronti dei marcatori bioumorali nella diagnosi precoce: il più utilizzato e studiato è l'alfafetoproteina. Questo marcatore non ha dimostrato un'alta sensibilità nella diagnosi precoce se utilizzato singolarmente: alcuni studi che hanno confrontato l'utilizzo singolo dell'ecografia e dell'ecografia combinata alla rilevazione dell'alfafetoproteina hanno dimostrato come l'utilizzo contemporaneo di queste due metodiche presenti una sensibilità del 63% nell'effettuare una diagnosi precoce rispetto alla sola ecografia. Si è constatato come sia migliore considerare l'andamento dei valori dei AFP più che il risultato di un singolo prelievo in quanto aumenti costanti di AFP, anche se al di sotto del cutoff di 20ng/mL, possono risultare preoccupanti; al contrario valori di AFP stabili o in calo, anche se superiori al cut-off potrebbero essere rassicuranti⁴¹. Per quanto riguarda la sorveglianza nei pazienti NAFLD, poiché l'incidenza della NAFLD sta aumentando progressivamente nel tempo e presenta un ampio spettro di gravità istologica, è difficile identificare quali pazienti sottoporre a sorveglianza. Nei pazienti con cirrosi NAFLD correlata, l'incidenza di HCC è elevata. Nei pazienti con NASH precirrotica e stadi di fibrosi F1-F3, il rischio è intermedio rispetto alla semplice steatosi epatica senza infiammazione e alla NAFLD cirrosi³. I pazienti non cirrotici tendenzialmente presentano tumori di maggiori dimensioni poiché meno frequentemente sottoposti a sorveglianza⁵⁹. Per questo motivo, riguardo lo screening si suggerisce di identificare nuovi biomarcatori con maggiore accuratezza rispetto all'AFP per integrare meglio lo screening radiologico. Allo stesso tempo, lo screening del carcinoma epatocellulare nella NAFLD non cirrotica non è considerato economicamente vantaggioso senza ulteriori studi che identifichino profili specifici di fattori di rischio che restringano significativamente la potenziale popolazione target⁶⁰.

1.7.3 Diagnosi

Il rischio di un paziente di presentare carcinoma epatocellulare dipende da diversi fattori eziopatogenetici. Anche se può insorgere in pazienti con fegato sano, la diagnosi si effettua, generalmente, a seguito del riscontro a livello epatico di un nodulo non precedentemente noto in pazienti a rischio (pazienti con epatopatia cronica). La diagnosi si può avvalere di diverse metodiche quali l'ecografia con

mezzo di contrasto, meno sensibile rispetto alla TC spirale e RMN e alle tecniche istologiche. Nei pazienti con cirrosi epatica, che presentano un nodulo superiore a 1 cm, la diagnosi è certa se presenta un comportamento della lesione, rispetto al parenchima circostante, caratteristico: ipervascolarizzazione arteriosa (wash-in) seguita da una rapida eliminazione del mdc in fase di equilibrio e portale (wash-out). Nel caso in cui il nodulo non presentasse questo comportamento contrastografico si potrebbe ricorrere ad ulteriori metodiche quali esame istologico mediante agobiopsia ecoguidata. Se la lesione è inferiore ad 1 cm, tendenzialmente, si tende a programmare, in follow-up, una ecografia ogni 3 mesi.

1.7.4 Stadiazione

I normali criteri di stadiazione dei tumori maligni (come il sistema TNM che valuta i parametri di estensione locale del tumore, linfonodale e a distanza) non sono utili nel valutare la prognosi dei pazienti in quanto non vi è la valutazione della riserva di funzionalità epatica.

Numerosi sistemi di stadiazione sono stati proposti nel tempo, sia in Asia (come il sistema Okuda) che in Europa: il sistema di stadiazione francese, quello di Barcellona (BLCL) e quello italiano (score CLIP, efficace nel valutare la prognosi ma non negli stadi più precoci di patologia). Nonostante si siano susseguiti diversi score, ad oggi, quello più completo è ancora rappresentato dal BCLC³⁴.

Attualmente si utilizza il sistema stadiativo BCLC che considera marker per la funzionalità epatica, l'estensione della patologia (se si tratta di un nodulo singolo, se sono presenti più noduli di dimensione inferiore ai 3 cm, o patologia multinodulare), ed il Performance Status che valuta le condizioni generali del paziente e la sua capacità di svolgere le normali attività quotidiane (ECOG score suddiviso in 5 gradi; con 0 si considera un paziente attivo, capace di svolgere le normali attività senza restrizioni, 4 un paziente totalmente incapace di svolgere normalmente le attività quotidiane, costretto a letto o sulla sedia).

La stadiazione BCLC si basa su 5 stadi: gli stadi precoci e iniziali di patologia (0 e A) nei quali sono compresi i pazienti asintomatici che possono essere candidati ad un trattamento di resezione o trapianto epatico con intento curativo,

tendenzialmente presentano una lesione unica o fino a tre noduli di diametro inferiore ai 3 cm con una preservazione della funzionalità epatica; stadio intermedio BCLC B e C, asintomatici ma con tumori multifocali senza invasione vascolare o metastasi a distanza. Infine, vi è lo stadio avanzato BCLC D in cui i pazienti generalmente presentano prognosi infausta: si tratta di pazienti terminali, eventualmente da trapiantare (se il tumore è nei limiti di trapiantabilità) in quanto presentano una funzionalità epatica scadente.

1.7.5 **Trattamento**

I trattamenti dei pazienti con carcinoma epatocellulare sono vari e il riconoscimento del trattamento più adeguato a quel paziente dipende dalla stadiazione della patologia, la presenza di comorbidità e presenza/assenza di cirrosi. Il sistema di stadiazione BCLC è vantaggioso in quanto consente di correlare la stadiazione della patologia alle indicazioni terapeutiche. Questo sistema di stadiazione, infatti, raccomanda diverse opzioni terapeutiche per ogni stadio della malattia: il trapianto epatico costituisce sicuramente il miglior approccio terapeutico, indicato per i pazienti con BCLC-A, garantisce una sopravvivenza ottimale in quanto rimuove contemporaneamente il tumore e il fegato cirrotico, quindi la patologia sottostante che ha promosso l'insorgere del cancro, sostituendolo con un fegato sano, consentendo una sopravvivenza del 75% a 5 anni. Allo stesso tempo, anche la resezione chirurgica è indicata nei pazienti con carcinoma epatocellulare allo stadio iniziale, unifocale e in assenza di ipertensione portale significativa. L'approccio chirurgico può essere indicato anche in caso di presenza di plurifocalità periferiche in cui la resezione è eseguibile e non determini il rischio di scompenso epatico. In questo caso la sopravvivenza a 5 anni si attesta attorno al 70%. Secondo i criteri di Milano, i pazienti che possono giovare del trapianto di fegato sono quelli che presentano un nodulo singolo o fino a 3 noduli di piccola dimensione. Studi rivelano come solo il 15% dei pazienti sono eleggibili al trapianto in quanto la maggior parte di questi presenta uno stadio avanzato della patologia alla diagnosi. Pazienti con neoplasie eccedenti i criteri di Milano possono giovare di terapie locoregionali (ablative percutanee, TACE) volte a ridurre il volume tumorale al fine di consentirne il trapianto. Nei pazienti con

tumori fino a 3 cm non candidabili a resezione o trapianto, l'ablazione percutanea con radiofrequenze (RFA) offre sopravvivenze fino al 50% a 5 anni⁶⁷. Un altro approccio in pazienti in stadio intermedio è quello dell'alcolizzazione (PEI) che consiste nell'iniettare alcool, in sede del nodulo, tramite un ago molto sottile provocando conseguente necrosi coagulativa. Tuttavia, la sopravvivenza non è elevata, si attesta attorno al 40% a 5 anni. Si è evidenziato come non vi sia una sostanziale differenza tra l'approccio percutaneo e quello chirurgico: tuttavia si è evidenziato come per noduli di dimensione inferiore ai 3 cm sia preferibile utilizzare il trattamento percutaneo, invece, per noduli di maggiore dimensione si preferisce l'approccio chirurgico. Bisogna allo stesso tempo considerare la sede di insorgenza del tumore per valutare correttamente l'approccio terapeutico più adeguato a quel paziente. La TACE, (chemioembolizzazione transarteriosa) è una tecnica ampiamente utilizzata a livello globale come trattamento per quei pazienti con HCC multifocale, può essere considerata in quei pazienti con BCLC-B e in alcuni BCLC-C. È una tecnica che sfrutta la vascolarizzazione epatica per iniettare in sede tumorale un chemioterapico che determina l'ischemia del territorio determinando necrosi delle cellule tumorali. In contrasto con altri tumori solidi, l'approccio sistemico dell'HCC è stato introdotto successivamente in quanto si considerava resistente alla chemioterapia con overespressione di diidropiridina deidrogenasi e il MDR (multidrug resistant gene). Prima dell'approvazione del Sorafenib, si è tentato un approccio con la doxorubicina, tuttavia questa molecola si è rivelata non sufficientemente efficace e cardiotossica. Allo stesso modo si è rivelata la scarsa efficacia di altri chemioterapici comunemente utilizzati in altri tumori solidi come il 5 FU⁵². Nonostante ciò, in quei pazienti in cui non possono essere utilizzati gli approcci terapeutici precedentemente descritti (trapianto, tecniche percutanee, resezione), in quanto in uno stadio avanzato di diagnosi, si può tentare il trattamento sistemico: una delle prime molecole introdotte è stata il Sorafenib. Il Sorafenib è un inibitore multichinasico che favorisce l'apoptosi, riduce i fenomeni di neoangiogenesi e sopprime la proliferazione tumorale. Nei pazienti con tumori in fase avanzata, questa molecola consente un aumento della sopravvivenza del paziente di circa 3 mesi. Sfortunatamente è frequente l'insorgenza di resistenza a questo farmaco: studi hanno rilevato che l'epigenetica,

i processi di trasporto e morte cellulare, il microambiente tumorale sono coinvolti nello sviluppo di resistenza al Sorafenib e nella progressione dell'HCC⁵². A causa di questi fenomeni di resistenza, viene sostituito con il Regorafenib, utilizzabile nei pazienti già sottoposti al trattamento con Sorafenib e che consente, anche in questo caso, un aumento della spettanza di vita di ulteriori tre mesi. Il Sorafenib⁵² e Lenvatinib⁵³ rimangono le terapie a singolo farmaco più efficaci. Anche il Cabozantinib⁵⁴ e Ramucirumab⁵⁵ hanno dimostrato un miglioramento della sopravvivenza. La terapia sistemica comprende anche gli inibitori del checkpoint del sistema immunitario, gli inibitori delle tirosin chinasi e anticorpi monoclonali. Inoltre, sono in corso studi di fase III sull'efficacia delle terapie combinate, ossia la combinazione di inibitori del checkpoint del sistema immunitario con inibitori delle tirosin-chinasi o la combinazione di inibitori dell'asse PD1/PDL1 con inibitori di CTLA4. I risultati di questi studi dovrebbero cambiare il panorama della gestione del carcinoma epatocellulare in tutte le fasi evolutive⁵⁵.

Le opzioni terapeutiche nei pazienti con HCC su epatopatia NAFLD correlata sono le stesse di qualsiasi paziente con HCC insorto su un altro tipo di epatopatia, ma la diagnosi effettuata più tardivamente e concomitanti comorbidità potrebbero limitare azioni potenzialmente curative. In uno studio tedesco condotto su 45 pazienti con HCC correlata a NASH e 1074 in pazienti non NASH la resezione o il trapianto epatico sono stati effettuati raramente nonostante la funzione epatica fosse conservata. La rilevazione di una dimensione maggiore del tumore al momento della diagnosi è stato uno dei motivi di esclusione dell'esecuzione di trapianto epatico nei pazienti con HCC NASH-correlato; il Sorafenib è stato somministrato più frequentemente come trattamento primario. In alcuni pazienti con BMI elevato, > 40 kg/m² il trapianto di fegato potrebbe essere controindicato; la chirurgia bariatrica, inoltre, potrebbe essere controindicata in pazienti con epatopatia grave⁴².

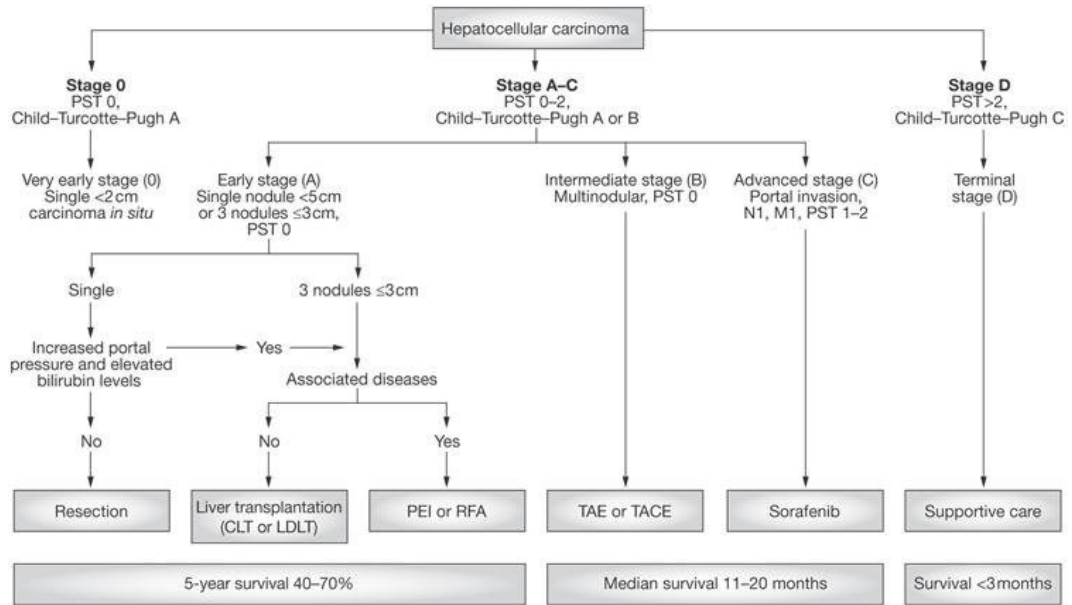


Fig. 4 Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) classification. *PST-Performance Status Test³⁷

2. SCOPO DELLO STUDIO

L'obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare e confrontare, in una popolazione di pazienti NAFLD-HCC e MAFLD-HCC, retrospettivamente, alcuni score di fibrosi (NAFLD fibrosis score, FIB-4, APRI, BARD) che esprimono il rischio di insorgenza di HCC nei pazienti con epatopatia metabolica. Questo con lo scopo di identificare, specialmente nella popolazione di pazienti non cirrotici, la prevalenza dei pazienti ad alto rischio e quindi meritevoli di sorveglianza, e di confrontare tra loro i vari score.

3. MATERIALI E METODI

3.1 GRUPPI DI STUDIO

Per questo studio retrospettivo è stato analizzato il database ITA.LI.CA (Italian Cancer Liver), che attualmente include 9574 pazienti con diagnosi di carcinoma epatocellulare, seguiti presso 23 centri dal gennaio 1987 al gennaio 2021, per il nostro studio sono stati considerati i dati successivi agli anni 2000 in quanto mancavano troppi dati per le statistiche descrittive. Per descrivere le tendenze epidemiologiche, il periodo di studio è stato suddiviso in dieci frazioni consecutive (dal 2000-2001 al 2018-2019). I dati inclusi in questo database sono stati raccolti prospetticamente e aggiornati ogni due anni, includendo pazienti con diagnosi di epatocarcinoma effettuata seguendo le linee guida italiane o internazionali disponibili al momento della diagnosi stessa. In questo database vengono incluse caratteristiche demografiche dei pazienti (età, sesso), eziologia dell'epatopatia, BMI, tipo di diagnosi (casuale, sintomatica, durante la sorveglianza). Vengono inoltre raccolte informazioni in merito all'anamnesi del paziente e alle comorbidità (in particolare, rilevanti per questo studio sono le informazioni riguardanti la presenza di diabete diabetica o iperglicemia a digiuno, ipertensione arteriosa, ipercolesterolemia, obesità). ECOG score del paziente. Valutazione delle caratteristiche della lesione tumorale: numero e dimensione dei noduli, presenza di invasione microvascolare ed eventuale estensione extraepatica del tumore. Trattamento di scelta per il paziente in base ai criteri di Milano. Risultati di analisi di laboratorio antecedenti l'inclusione nel database ITA.LI.CA: albumina, bilirubina, INR, AFP, creatinina conta piastrinica, glicemia, colesterolo totale e HDL, trigliceridemia, punteggio MELD. Classe Child-Pugh e stadio BCLC. Sono state selezionate delle popolazioni di pazienti con diagnosi di epatocarcinoma con eziologia NAFLD ed S-MAFLD. Il gruppo di pazienti con diagnosi di NASH è composto da 472 pazienti, di cui 337 cirrotici e 135 non cirrotici. La presenza di cirrosi è stata definita sulla base di criteri prettamente clinici, per la presenza di complicanze dell'ipertensione portale come varici ed ascite, bioumorali (piastrinopenia, leucopenia, elevazione delle transaminasi AST e ALT, riduzione

dell'albuminemia, aumento della bilirubina e fosfatasi alcalina) e di imaging (presenza di noduli epatici, di fegato disomogeneo, splenomegalia, aumento del diametro dell'arteria epatica e riduzione di quello della vena epatica, alta stiffness al fibroscan) e laboratoristici al momento dell'inclusione del paziente, eventualmente a seguito di una conferma bioptica. Al momento dell'inclusione dei pazienti, la diagnosi di steatosi epatica non era stata definita con imaging o con biopsia, né erano disponibili dati ottenuti retrospettivamente. Per questo motivo i pazienti con HCC con eziologia MAFLD sono stati definiti a seguito della validazione di almeno una caratteristica tra: sovrappeso/obesità con BMI>25kg/m², diabete mellito di tipo 2, ed evidenza di sindrome metabolica. Quest'ultima è stata definita dalla presenza di almeno due criteri tra: ipertensione arteriosa con valori > 130/85 mm/Hg o in trattamento farmacologico; trigliceridemia >150 mg/dL o in trattamento farmacologico specifico; valori di glicemia a digiuno 100-125 mg/dL o in trattamento antidiabetico; valori di HDL < 40mg/dL negli uomini e <50 mg/dL nelle donne. A seconda della presenza o meno di ulteriori eziologie di epatopatia, i pazienti indicati come MAFLD sono stati stratificati in S ed M-MAFLD: il gruppo di pazienti S-MAFLD (MAFLD a singola eziologia) include 935 pazienti con epatocarcinoma con diagnosi di MAFLD senza alcuna eziologia aggiuntiva. 3715 pazienti non sono stati inclusi in nessuna popolazione per mancanza di parametri clinici che confermassero la diagnosi di MAFLD. Nelle popolazioni di pazienti NAFLD ed S-MAFLD sono stati calcolati 4 score per la valutazione della fibrosi epatica:

1. Il NAFLD Fibrosis Score (NFS) fornisce una stima del rischio di fibrosi epatica sulla base dei seguenti parametri: l'età del paziente, BMI, la presenza di diabete di tipo 2, AST e ALT, albumina e conta piastrinica. I cut-off variano a seconda dell'età⁶³:

- Età ≤ 65 anni:
 - NFS < 1.455 -> basso rischio;
 - NFS -> 1.45-0.67 -> rischio intermedio;
 - NFS > 0.67 -> alto rischio;

- Età> 65 anni:
NFS<0.12-> basso rischio;
NFS>0.12-> alto rischio;
2. Il FIB-4, allo stesso modo dell’NFS, stima il grado di fibrosi, considerando l’età, i valori di AST e ALT e la conta piastrinica. Anche in questo caso si sono stratificati i pazienti in base ad un cut-off di 65 anni⁶⁴:
- Età ≤ 65 anni:
FIB-4<1.30-> basso rischio;
FIB-4->1.30-3.25-> rischio intermedio;
FIB-4->3.25-> alto rischio;
 - Età>65 anni:
FIB-4<2-> basso rischio;
FIB-4>2-> alto rischio;
3. Il BARD score valuta lo stato di fibrosi e stratifica i pazienti in base a tre Variabili⁶⁶:
- BMI>28kg/m²->1 punto;
 - Rapporto AST/ALT>0.8 -> 2 punti;
 - Diagnosi DM2-> 1punti.

Si assegna un punteggio da 0 a 4: un BARD score pari a 0 o 1 indica uno status di lieve fibrosi (F1-F2); valori>2 indicano uno status di fibrosi avanzata (F3-F4).

4. L’APRI score stima il grado di fibrosi sulla base delle transaminasi e la conta piastrinica⁶⁵:
- APRI<1-> basso rischio;
 - APRI>1-> alto rischio.

3.2 ANALISI STATISTICA

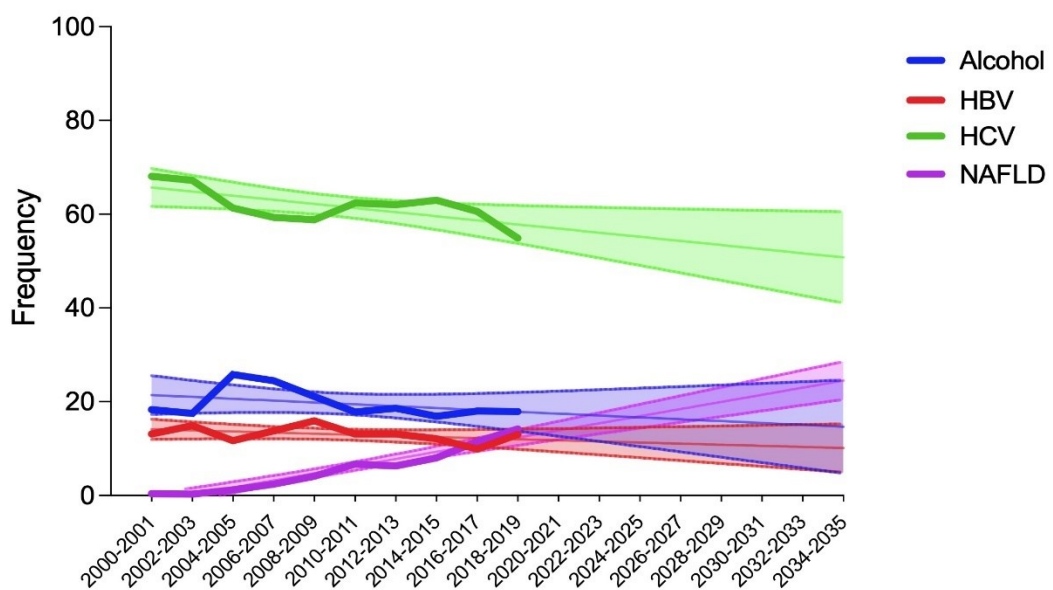
Le variabili categoriche sono state riportate come frequenze assolute e relative (percentuali), mentre le variabili quantitative sono state riportate come mediana e range interquartile (IQR). Per comparare tali variabili sono stati utilizzati il test di Mann-Whitney, il test chi-quadrato ed il test esatto di Fischer. Sono stati

confrontati i trend epidemiologici dei gruppi NAFLD e MAFLD comparandoli con le altre eziologie di HCC utilizzando la frequenza in bienni relativa ad ogni singola eziologia. I trend epidemiologici sono mostrati graficamente e la significatività statistica delle differenze è stata valutata utilizzando un modello di regressione lineare. Quest'ultimo è stato anche utilizzato per valutare le traiettorie future dei pazienti con NAFLD/NASH e MAFLD rispetto alle altre eziologie. La sopravvivenza globale (overall survival, OS), espressa come mediana con intervallo di confidenza (IC) al 95%, è stata calcolata dalla data della diagnosi di HCC alla data del decesso per qualsiasi causa, o alla data dell'ultimo follow-up (censura dei dati in data 31/12/2020). Le curve di sopravvivenza sono state stimate mediante metodo di Kaplan-Meier e comparate utilizzando il log-rank test. L'analisi di Cox è stata utilizzata per valutare le variabili indipendentemente associate con la sopravvivenza, includendo nel modello multivariato le variabili associate significativamente ($p \leq 0.1$) alla sopravvivenza, selezionandole in maniera tale da evitare la collinearità tra le variabili. In tutte le analisi, un valore di $p < 0.05$ è stato considerato come statisticamente significativo. Per tutte le analisi in questo studio sono stati utilizzati IBM SPSS Statistics (Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.), e GraphPad Prism version 8.3.1 (GraphPad Software, La Jolla, California, USA).

4. RISULTATI

4.1 TREND EPIDEMIOLOGICO NAFLD

La NAFLD sta progressivamente aumentando come eziologia alla base dell'HCC. Nella figura 5. si evidenzia il trend epidemiologico delle più frequenti cause di insorgenza di carcinoma epatocellulare: si sono prese in considerazione l'eziologia alcolica, quella virale (HBV, HCV) e la NAFLD (la popolazione selezionata per il nostro studio comprende 472 pazienti con NAFLD-HCC). Si è valutata la tendenza epidemiologica del periodo che intercorre tra il gennaio 2000 al dicembre 2019. La proporzione dei pazienti con NAFLD è aumentata durante il periodo di studio, da 0.4% nel biennio 2000-2001 al 14.2% nel biennio 2018-2019 ($p < 0.0001$). Parallelamente, la proporzione dei pazienti con HCV è diminuita durante il periodo di studio dal 68.1% del biennio 2000-2001 al 54.9% del biennio 2018-2019 ($p = 0.03$). Non ci sono invece state sostanziali modifiche nei pazienti con HBV (dal 13.1% and 13.0%; $p = 0.22$) e nei pazienti con eziologia alcolica (dal 18.3% al 17.9%; $p = 0.27$). Utilizzando un modello di regressione lineare, si sono estesi agli anni futuri i trend epidemiologici dei pazienti con eziologia NAFLD e non NAFLD. L'eziologia NAFLD ha già superato l'eziologia HBV e dovrebbe superare l'eziologia alcolica fra circa 2-3 anni.



	2000-2001	2002-2003	2004-2005	2006-2007	2008-2009	2010-2011	2012-2013	2014-2015	2016-2017	2018-2019	-
Alcol	42	61	86	92	118	138	167	160	134	134	-
HBV	30	52	39	52	89	102	118	114	74	97	-
HCV	156	234	204	223	328	484	558	595	452	411	-
NAFLD	1	1	4	9	23	52	57	76	86	106	-

Fig.5 Curva di frequenza epidemiologica di pazienti con HCV-HCC, NAFLD-HCC, HBV-HCC e HCC alcool correlato.

4.1.2 CARATTERISTICHE DI BASE DEI PAZIENTI NAFLD

Per questo studio, sono stati selezionati 472 pazienti NAFLD dal database ITA.LI.CA, tra questi 135 senza cirrosi epatica e 337 cirrotici. Le caratteristiche di base dei pazienti NAFLD inclusi nello studio sono esposte nella Tabella III. I pazienti senza cirrosi epatica erano più frequentemente maschi (87.4% vs. 74.2%; $p=0.001$), mentre non vi erano differenze significative in termini di età fra i due gruppi. La maggior parte dei pazienti cirrotici erano sottoposti a sorveglianza, diversamente dai pazienti non cirrotici (50.7% vs. 28.9%; $p<0.0001$). In entrambe le popolazioni non vi sono differenze statisticamente significative riguardo le comorbidità, ad eccezione del diabete che è risultato più frequente nei pazienti cirrotici rispetto ai non cirrotici. (76.6% vs. 63.7%; $p<0.006$). Considerando l'ECOG, i pazienti presentano tendenzialmente un buon Performance Status e non vi sono differenze statisticamente significative tra i due gruppi. Probabilmente, a ragion del fatto che i pazienti cirrotici sono maggiormente sottoposti a sorveglianza, presentano più frequentemente dei tumori significativamente più piccoli, meno frequentemente infiltrativi e massivi, rispetto i pazienti non cirrotici (1.2 % vs. 4.4% di tumori massivi; $p=0.04$). Riguardo il numero dei noduli alla diagnosi, le due popolazioni, di cirrotici e non cirrotici, presentano tendenzialmente un nodulo ($p=0.03$), ma con diametro (cm) maggiore nei non cirrotici rispetto ai non cirrotici (4.5 cm vs. 3 cm; $p<0.0001$).

Riguardo le caratteristiche di invasività microvascolare e di estensione extraepatica del tumore, non vi sono delle differenze statisticamente significative nei due gruppi ($p=0.27$ e $p=0.25$ rispettivamente). Per quanto riguarda il primo trattamento, i pazienti non cirrotici sono più frequentemente sottoposti a resezione epatica, probabilmente dovuto ad un fegato meno compromesso, rispetto ai pazienti cirrotici (40.7% vs 17.2%; $p<0.0001$). Questi ultimi sono

maggiormente sottoposti ad ablazione rispetto ai non cirrotici (31.5% vs 20%; $p < 0.0001$). Confrontando i parametri biumorali, nei pazienti non cirrotici si riscontra un'albumina più elevata rispetto ai non cirrotici (3.8g/dL vs 3.6g/dL; $p = 0.01$) e una bilirubina (0.8 mg/dL vs. 1.02) e un INR ridotti (1.10 vs 1.20; $p > 0.0001$). I pazienti non cirrotici presentano, inoltre, una conta piastrinica maggiore rispetto ai pazienti cirrotici (173×10^9 vs. 111×10^9 ; $p < 0.0001$). Coerente con quanto descritto precedentemente, i pazienti cirrotici presentano una glicemia a digiuno tendenzialmente maggiore rispetto ai pazienti non cirrotici (125 mg/dL vs 114 mg/dL; $p = 0.03$). Il MELD score risulta più elevato nei pazienti cirrotici rispetto ai pazienti non cirrotici (10 vs. 8; $p < 0.0001$). Nei pazienti non cirrotici si sono registrati più spesso casi di Child-Pugh A (85.9% vs. 65.9%; $p < 0.0001$), differentemente dai pazienti cirrotici che presentano più frequentemente uno stadio B (28.8% vs. 13.3; $p < 0.0001$) e C (5.3% vs. 0.8%; $p < 0.0001$). Nei pazienti non cirrotici è più frequente un tumore BCLC stadio A (47.4 vs. 37.4%; $p = 0.002$) e B (20.7% vs. 13.4%; $p = 0.002$), nei cirrotici è frequente anche lo stadio D (6.8% vs. 1.5%; $p = 0.002$).

Tabella III. Caratteristiche di base dei pazienti.

Variabili	Totale (n=472)	Non-cirrotici (n=135, 28.6%)	Cirrotici (n=337, 71.4%)	P
Sesso				
Maschi	368 (78.0)	118 (87.4)	250 (74.2)	0.001
Femmine	104 (22.0)	17 (12.6)	87 (25.8)	
Età	70 (65-75)	71 (64-77)	70 (65-74)	0.21
BMI (kg/m ²)	29.1 (26.0-32.2)	28.7 (26.6-31.9)	29.1 (25.6-32.5)	0.92
Sorveglianza				
No	262 (55.5)	96 (71.1)	166 (49.3)	<0.0001
Sì	210 (44.5)	39 (28.9)	171 (50.7)	
Comorbidità				
Iperensione	283 (60.0)	74 (54.8)	209 (62.0)	0.18
Obesità	182 (38.6)	47 (34.8)	135 (40.1)	0.30
Ipercolesterolemia	156 (33.1)	54 (40.0)	102 (30.3)	0.05
Ipertrigliceridemia	89 (18.9)	32 (23.7)	57 (16.9)	0.09
Pre-diabete	97 (20.6)	28 (20.7)	69 (20.5)	0.99
Diabete	344 (72.9)	86 (63.7)	258 (76.6)	0.006
ECOG				
0	357 (75.6)	113 (83.7)	244 (72.4)	0.08
1	73 (15.5)	15 (11.1)	58 (17.2)	
2	29 (6.1)	5 (3.7)	24 (7.1)	
3	13 (2.8)	2 (1.5)	11 (3.3)	
Macroscopica				
Monofocale	265 (56.2)	82 (60.8)	183 (54.4)	0.04

Multifocale	177 (37.5)	41 (30.4)	136 (40.4)	
Infiltrativo	20 (4.2)	6 (4.4)	14 (4.2)	
Massivo	10 (2.1)	6 (4.4)	4 (1.2)	
Numero di noduli	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	0.03
Diametro (cm)	3.0 (2.0-5.0)	4.5 (2.8-7.5)	3.0 (2.0-4.6)	<0.0001
MVI				
Sì	56 (11.9)	12 (8.9)	44 (13.1)	0.27
No	416 (88.1)	123 (91.1)	293 (86.9)	
EHS				
Sì	34 (7.2)	13 (9.6)	22 (6.5)	0.25
No	438 (92.8)	122 (90.4)	315 (93.5)	
Primo trattamento				
LT	4 (0.8)	0 (0.0)	4 (1.2)	<0.0001
LR	113 (23.9)	55 (40.7)	58 (17.2)	
ABL	133 (28.2)	27 (20.0)	106 (31.5)	
IAT	146 (30.9)	33 (24.4)	113 (33.5)	
SOR	43 (9.1)	16 (11.9)	27 (8.0)	
BSC	33 (7.0)	4 (3.0)	29 (8.6)	
Trattamento principale				
LT	18 (3.8)	1 (0.7)	17 (5.0)	<0.0001
LR	122 (25.8)	59 (43.7)	63 (18.7)	
ABL	144 (30.5)	27 (20.0)	117 (34.7)	
IAT	109 (23.1)	26 (19.3)	83 (24.6)	
SOR	37 (7.8)	14 (10.4)	23 (6.8)	
BSC	42 (8.9)	8 (5.9)	34 (10.1)	
Albumina (g/dL)	3.7 (3.3-4.0)	3.8 (3.6-4.0)	3.6 (3.2-4.1)	0.01
Bilirubina (mg/dL)	1.00 (0.70-1.40)	0.80 (0.60-1.10)	1.02 (0.80-1.60)	<0.0001
INR	1.17 (1.07-1.28)	1.10 (1.04-1.20)	1.20 (1.10-1.30)	<0.0001
AFP (ng/mL)	6.33 (3.20-50.0)	4.65 (2.50-48.43)	6.90 (3.40-53.00)	0.06
Creatinina (mg/dL)	0.94 (0.78-1.10)	0.92 (0.80-1.10)	0.94 (0.76-1.10)	0.60
PLT (x 10 ⁹ /L)	124 (87-186)	173 (129-246)	111 (80-165)	<0.0001
Glicemia (mg/dL)	122 (100-151)	114 (97-140)	125 (100-167)	0.03
Colesterolo (mg/dL)	157 (127-189)	163 (143-190)	155 (125-188)	0.24
HDL (mg/dL)	40 (33-51)	40 (34-51)	40 (33-51)	0.85
Trigliceridi (mg/dL)	109 (80-144)	110 (90-153)	109 (78-144)	0.32
MELD	9 (8-12)	8 (7-11)	10 (8-12)	<0.0001
Child-Pugh class				
A	338 (71.6)	116 (85.9)	222 (65.9)	<0.0001
B	115 (24.4)	18 (13.3)	97 (28.8)	
C	19 (4.0)	1 (0.8)	18 (5.3)	
BCLC stage				
0	59 (12.5)	9 (6.7)	50 (14.8)	0.002
A	190 (40.3)	64 (47.4)	126 (37.4)	
B	73 (15.5)	28 (20.7)	45 (13.4)	
C	125 (26.5)	32 (23.7)	93 (27.6)	
D	25 (5.3)	2 (1.5)	23 (6.8)	

Abbreviazioni: BMI, indice di massa corporea; ECOG, Performance Status; MVI, invasione macrovascolare; EHS, diffusione extraepatica; LT, trapianto epatico, LR, resezione epatica; SOR, Sorafenib; BSC, trattamento sintomatico sistemico; AFP, alfafetoproteina; PLT, alfafetoproteina;

HDL, lipoproteine ad alta densità; MELD, model for endstage liver disease; BCLC, Barcelona clinic liver cancer.

4.1.3 CONFRONTO SCORE DI FIBROSI IN PAZIENTI NAFLD

Nella Tabella V. sono riportati i risultati delle analisi riguardo la valutazione dell'attendibilità dei vari score di fibrosi nell'individuare il rischio di HCC nel contesto di pazienti con NAFLD-HCC, confrontando pazienti cirrotici e non cirrotici. Il NAFLD fibrosis score (NFS) analizza i pazienti in base all'età. Si evidenzia come non sia uno score efficace nell'individuare, tra i pazienti non cirrotici, quelli a rischio di HCC (12.5% <65anni; $p=0.0007$; 44.4% >65; $p=0.01$). Da risultati migliori nel sottogruppo dei cirrotici in quanto rivela il 65.2% dei pazienti di età <65 anni ($p=0.0007$) e il 66.2% dei pazienti di età >65 anni ($p=0.01$). Inoltre, da risultati più soddisfacenti nell'individuare i pazienti non cirrotici con rischio intermedio di fibrosi (41.7%vs 21.9%; $p=0.0007$). L'APRI non risulta uno score valido nel predire i pazienti a rischio di HCC in quanto individua 44.4% e il 31.8% ($p=0.03$) rispettivamente dei pazienti cirrotici e non cirrotici. Gli unici due score che si sono rivelati attendibili, sia nei pazienti cirrotici, ma anche nei pazienti non cirrotici e che potrebbero risultare utili per selezionare i pazienti con NAFLD ad alto rischio di HCC da sottoporre a sorveglianza sono il BARD e il FIB-4. Il BARD è riuscito a discriminare il 90.6% dei pazienti cirrotici e il 69% dei pazienti non cirrotici ($p<0.0001$). Il FIB-4, che stratifica i pazienti in base all'età, è riuscito a discriminare il 72.5% dei pazienti cirrotici rispetto al 50% dei pazienti non cirrotici (età <65 anni), con differenze non statisticamente significative tra i due sottogruppi ($p=0.08$), e rispettivamente il 77.2% e il 71% dei pazienti cirrotici e non cirrotici (età >65 anni), senza differenze statisticamente significative tra i due gruppi ($p=0.32$). Nel contesto dei pazienti non cirrotici, da questi risultati si evince come il BARD sia il più efficiente score di fibrosi, classificando il maggior numero di pazienti ad alto rischio di HCC. Il FIB-4 costituisce uno score altrettanto efficiente nel discriminare i pazienti non cirrotici ad alto rischio di HCC con età >65 anni.

Tabella IV. Score di fibrosi in pazienti NAFLD.

Model	Totale (n=472)	Non-cirrotici (n=135, 28.6%)	Cirrotici (n=337, 71.4%)	P
NAFLD fibrosis score *				
Età ≤ 65 anni	n=56	n=24	n=32	
< -1.455	16 (28.6)	11 (45.8)	5 (15.6)	0.0007
- 1.455-0.676	17 (30.4)	10 (41.7)	7 (21.9)	
> 0.676	23 (40.4)	3 (12.5)	20 (65.2)	
Età > 65 years	n=134	n=54	n=80	
<0.12	57 (42.5)	30 (55.6)	27 (33.7)	0.01
≥ 0.12	77 (57.5)	24 (44.4)	53 (66.2)	
FIB-4 index **				
Età ≤ 65 anni	n=97	n=28	n=69	
< 1.30	19 (19.6)	7 (25.0)	12 (17.4)	0.08
1.30-2.67	14 (14.4)	7 (25.0)	7 (10.1)	
> 2.67	64 (66.0)	14 (50.0)	50 (72.5)	
Età > 65 anni	n=240	n=69	n=171	
<2.0	59 (24.6)	20 (29.0)	39 (22.8)	0.32
≥ 2.0	181 (75.4)	49 (71.0)	132 (77.2)	
APRI ***	n=362	n=107	n=255	
≤ 1	215 (59.4)	73 (68.2)	142 (55.7)	0.03
> 1	147 (40.6)	34 (31.8)	113 (44.3)	
BARD score ****	n=240	n=113	n=127	
≤ 2	47 (19.6)	35 (31.0)	12 (9.4)	<0.0001
> 2	193 (80.4)	78 (69.0)	115 (90.6)	

* Disponibile in 190 pazienti; **Disponibile in 337 pazienti; *** Disponibile in 362 pazienti; **** Disponibile in 240 pazienti.

4.1.3.1 PERFORMANCE DEGLI SCORE IN PAZIENTI NAFLD NON CIRROTICI

Nella **Tabella V.** è stata confrontata l'efficienza degli score di fibrosi nel predire l'insorgenza di HCC, retrospettivamente, in 135 pazienti NAFLD non cirrotici a seconda delle categorie di rischio individuate dai singoli score. Relativamente agli score che stratificano i pazienti in base all'età (NAFLD fibrosis score e FIB-4), ogni paziente è stato classificato in base al cut-off (65 anni) stabilito per la sua età. Il FIB-4 si è dimostrato significativamente più efficiente rispetto al NAFLD fibrosis score (NFS) e all'APRI nel predire l'insorgenza di HCC nei pazienti non cirrotici. Infatti, rispetto al NAFLD fibrosis score, il FIB-4 classifica un numero maggiore di pazienti nella categoria ad alto rischio di fibrosi (72.2% vs. 47.4%, p=0.001). Il FIB-4, inoltre, classifica un maggior numero di pazienti nella categoria ad alto rischio rispetto all'APRI (72.2%vs. 31.8%; p<0.0001). Confrontando l'APRI e il NFS, quest'ultimo risulta lievemente ma non sufficientemente più efficace rispetto

all'APRI nel classificare i pazienti ad alto rischio di fibrosi (47.4% vs. 31.8%; $p=0.03$). Allo stesso modo, il BARD si è rivelato significativamente più efficiente del NFS, classificando il 69% dei pazienti come ad alto rischio, rispetto al 47.4% del NFS ($p<0.004$). Inoltre, il BARD si è dimostrato statisticamente più efficiente rispetto all'APRI, individuando il 69% dei pazienti rispetto al 30.4% individuati dall'APRI ($p<0.0001$). I due score che si sono rivelati più efficaci nel discriminare i pazienti ad alto rischio di fibrosi sono il FIB-4 e BARD, tuttavia, come si evidenzia dalla Tabella VIII, comparando l'efficienza del FIB-4 e del BARD non vi è una sostanziale differenza di efficienza in quanto classificano come ad alto rischio di fibrosi rispettivamente il 72.8% e il 69% ($p=0.65$). Da questi risultati si evince come questi due score potrebbero essere efficaci nell'individuare i pazienti NAFLD non cirrotici da porre in sorveglianza per predire il rischio di insorgenza di HCC.

Tabella V. Analisi Cox di confronto dei vari score di fibrosi nell'individuare i pazienti NAFLD non cirrotici a rischio di HCC.

	Low-risk	High-risk	P
NAFLD fibrosis score	41 (52.6)	37 (47.4)	0.001
FIB-4	27 (27.8)	70 (72.2)	
NAFLD fibrosis score	41 (52.6)	37 (47.4)	0.03
APRI	73 (68.2)	34 (31.8)	
NAFLD fibrosis score	41 (52.6)	37 (47.4)	0.004
BARD	35 (31)	78 (69)	
FIB-4	27 (27.8)	70 (72.2)	<0.0001
APRI	73 (68.2)	34 (31.8)	
FIB-4	27 (27.8)	70 (72.8)	0.65
BARD	35 (31)	78 (69)	
APRI	73 (67.6)	34 (30.4)	<0.0001
BARD	35 (31)	78 (69)	

Nella Tabella sono mostrate le percentuali di riga e non di colonna.

4.1.1 CONFRONTO SOPRAVVIVENZA MEDIANA

Si sono confrontate le curve di sopravvivenza mediana nella popolazione in studio, prendendo in considerazione diverse comorbidità che si sono dimostrate rilevanti nello sviluppo di HCC. Tra i pazienti cirrotici e non cirrotici non si evidenzia una diversa sopravvivenza in maniera significativa: non cirrotici 56.7 mesi (95% CI 44.2-69.2) rispetto ai 40.1 mesi dei cirrotici (95% CI 32.5-47.8; $p=0.12$).

Come si può notare dalla Figura 6., vi è una sostanziale differenza di sopravvivenza tra i pazienti con ipertensione arteriosa (39.0 mesi, 95% CI 28.9-49.2) rispetto i pazienti senza ipertensione arteriosa (57.4 mesi, 95% CI 41.8-72.9, $p=0.04$).

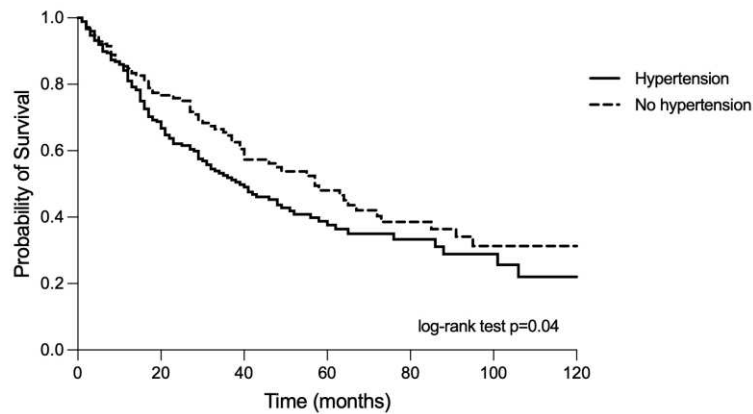


Fig. 6. Curva di sopravvivenza dei pazienti con e senza ipertensione arteriosa.

Si evidenzia, anche in questo caso, confrontando le curve di sopravvivenza mediana di pazienti obesi e non obesi, una sostanziale differenza: i pazienti non obesi, generalmente, hanno una sopravvivenza mediana maggiore (52 mesi, 95% CI 38.8-65.2) rispetto i pazienti obesi (37 mesi, 95% CI 25.9-48.2).

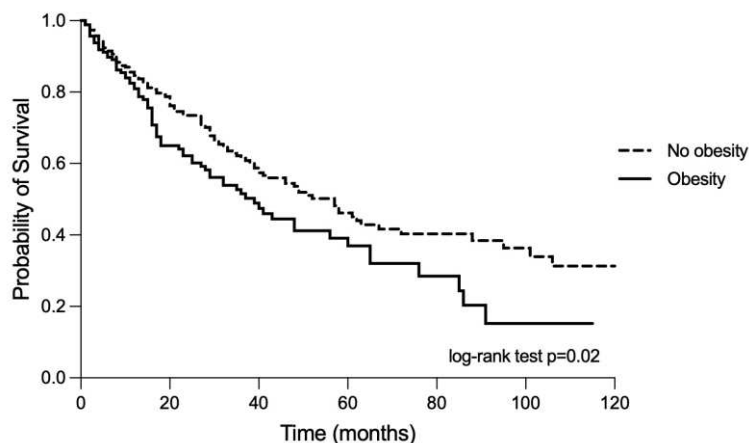


Fig.7. Curva di sopravvivenza dei pazienti obesi e non obesi.

Valutando, invece, le curve di sopravvivenza di pazienti con/senza diabete e con/senza ipercolesterolemia, non si è individuata una sopravvivenza mediana significativamente maggiore nei pazienti senza comorbidità ($p=0.47$ e $p=0.39$, rispettivamente). Da questi risultati si evidenzia come l'ipertensione arteriosa e l'obesità, oltre ad essere coinvolti nello sviluppo di HCC, risultino importanti anche nella prognosi del paziente, determinando una diminuzione statisticamente significativa della sopravvivenza, diversamente da quanto accade per il diabete e

l'ipercolesterolemia che non si sono dimostrati significativamente coinvolti nel determinare la prognosi del paziente.

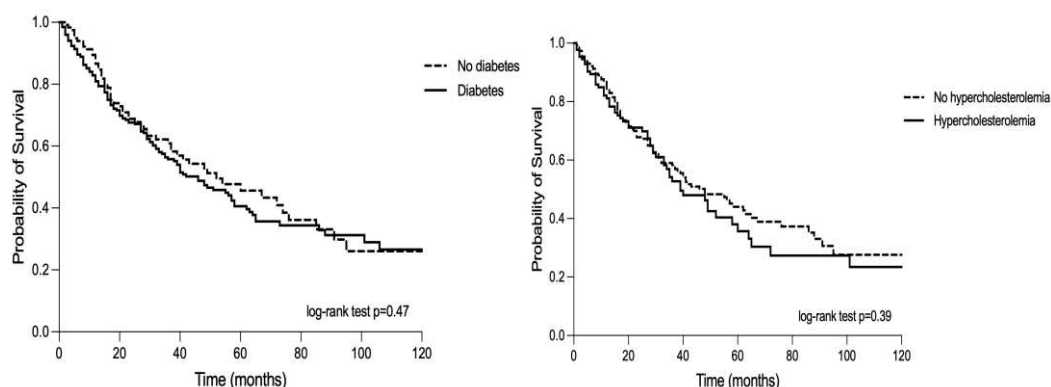


Fig.8. Curva di sopravvivenza di pazienti con/senza diabete e con/senza ipercolesterolemia.

I predittori indipendenti di sopravvivenza si sono valutati mediante l'analisi di regressione di Cox univariata e multivariata (Tabella VI). Tra i fattori relativi al paziente sembrano essere associati con la prognosi l'età (HR=1.02, IC 95%, 1.01-1.04; p=0.008), obesità (HR=1.42, IC 95%, 1.06-1.90; p= 0.02), ECOG>1 (HR=2.63, IC 95%, 1.96-3.52; p<0.0001). Tra i fattori relativi al tumore sono fattori di rischio il numero (HR=1.43, IC 95%, 1.30-1.56; p<0.0001) e diametro (HR= 1.05, IC 95%, 1.03-1.07; p<0.0001) dei noduli, MELD (HR=1.09, IC 95%, 1.04-1.13; p<0.0001), MVI (HR=5.67, IC 95%, 3.90-8.24; p<0.0001), EHS (HR=4.10, IC 95%, 2.69-6.26; p<0.0001) e uno stadio Child-Pugh e BCLC più avanzato. Risulta associato con una migliore sopravvivenza, la sorveglianza (HR=0.63, IC 95%, 0.47-0.85; p<0.002) e il trattamento principale con un trend decrescente secondo la seguente gerarchia terapeutica LT>LR>ABL>IAT>SOR>BSC. Dopo correzione per i fattori confondenti all'analisi multivariata, gli unici fattori associati in maniera indipendente dalla sopravvivenza sono risultati essere la diagnosi in sorveglianza (HR=0.61, IC 95%, 0.37-1.00; p=0.05), e il trattamento principale (con un aumento del rischio di mortalità crescente da terapie curative a terapie progressivamente meno radicali).

Tabella VI. Analisi di regressione logistica univariata e multivariata dei fattori associati alla sopravvivenza.

Variabili	Analisi Univariata		Analisi Multivariata	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
Cirrosi				
No	-	-	-	-
Sì	1.27 (0.94-1.73)	0.13	-	-
Sesso				
Femmina	-	-	-	-
Maschio	1.07 (0.77-1.50)	0.69	-	-
Età	1.02 (1.01-1.04)	0.008	0.97 (0.94-1.00)	0.07
BMI (kg/m ²)	1.04 (1.00-1.07)	0.03	1.01 (0.96-1.05)	0.76
Sorveglianza				
No	-	-	-	-
Sì	0.63 (0.47-0.85)	0.002	0.61 (0.37-1.00)	0.05
Iperensione				
No	-	-	-	-
Sì	1.33 (0.99-1.77)	0.06	1.26 (0.77-2.07)	0.36
Obesità				
No	-	-	-	-
Sì	1.42 (1.06-1.90)	0.02	-	-
Ipercolesterolemia				
No	-	-	-	-
Sì	1.15 (0.84-1.56)	0.39	-	-
Ipertrigliceridemia				
No	-	-	-	-
Sì	1.11 (0.77-1.60)	0.59	-	-
Diabete				
No	-	-	-	-
Sì	1.12 (0.83-1.52)	0.47	-	-
ECOG				
0	-	-	-	-
≥ 1	2.63 (1.96-3.52)	<0.0001	-	-
Numero noduli	1.43 (1.30-1.56)	<0.0001	-	-
Diametro (cm)	1.05 (1.03-1.07)	<0.0001	-	-
MVI				
No	-	-	-	-
Sì	5.67 (3.90-8.24)	<0.0001	-	-
EHS				
No	-	-	-	-

Sì	4.10 (2.69-6.26)	<0.0001		
Trattamento principale				
BSC/OTHER	-	-	-	-
LT	0.02 (0.00-0.12)	<0.0001	0.00 (0.00-0.00)	0.95
LR	0.10 (0.06-0.16)	<0.0001	0.08 (0.03-0.21)	<0.0001
ABL	0.15 (0.09-0.25)	<0.0001	0.18 (0.07-0.44)	0.0002
IAT	0.23 (0.14-0.38)	<0.0001	0.21 (0.08-0.50)	0.001
SOR	0.78 (0.45-1.36)	0.38	0.62 (0.24-1.61)	0.32
MELD	1.09 (1.04-1.13)	<0.0001	1.04 (0.97-1.12)	0.24
Child-Pugh				
A	-	-		
B	2.47 (1.80-3.39)	<0.0001		
C	3.46 (1.85-6.48)	0.0001	-	-
Stadio BCLC				
0	-	-	-	-
A	1.61 (0.87-2.99)	0.13	1.33 (0.61-2.91)	0.48
B	3.19 (1.66-6.13)	<0.0001	2.28 (0.86-6.04)	0.11
C	4.85 (2.63-8.96)	<0.0001	2.01 (0.85-4.73)	0.06
D	7.97 (3.83-16.60)	<0.0001	3.51 (0.95-12.92)	

Abbreviazioni: BMI, Body mass index; MVI, invasione microvascolare; EHS, invasione extraepatica; MELD, model for endstage liver disease; BCLC, Barcelona clinic liver cancer.

4.2 TREND EPIDEMIOLOGICO S-MAFLD

Come per la NAFLD, anche per i pazienti S-MAFLD si è valutato il trend epidemiologico di varie eziologie di HCC: sono state considerate l'eziologia alcolica, quella virale (HBV, HCV) e la MAFLD. La popolazione di pazienti con MAFLD è dal 2000 al 2019 passando da uno 0.87% nel biennio 2000-2001 ad un 21.32% nel biennio 2018-2019. Contemporaneamente, la prevalenza di HCV, che si conferma l'eziologia più frequente di HCC, si è ridotta da un 68% dal biennio 2000-2001 ad un 50.3% nel biennio 2018-2019 coerentemente con quanto descritto da Vitale A. et al. L'eziologia HBV correlata è passata da un 13% nel biennio 2000-2001 ad un 12% nel 2018-2019, mantenendosi sostanzialmente costante. L'eziologia alcolica da 18% nel 2000-2001 ad un 16% nel 2018-2019.

L'eziologia MAFLD ha già superato l'eziologia HBV correlata e quella alcolica e si attesta la seconda causa più frequente di diagnosi di carcinoma epatocellulare.

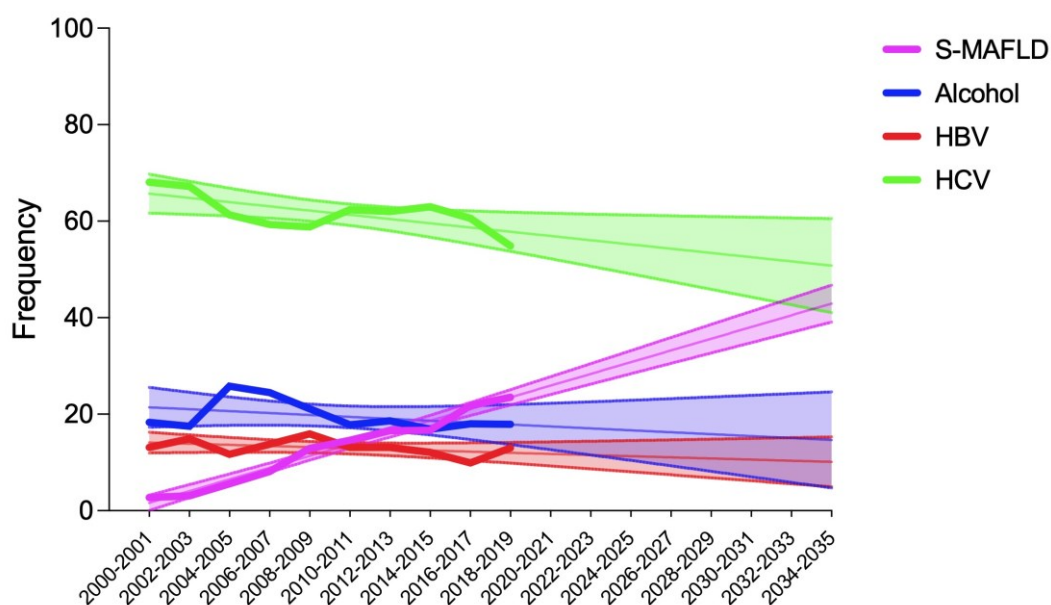


Fig.9 Curva di frequenza epidemiologica di pazienti con HCV-HCC, MAFLD-HCC, HBV-HCC e HCC alcool correlato.

4.2.1 CARATTERISTICHE DI BASE DEI PAZIENTI S-MAFLD

Sono stati selezionati, dal database ITA.LI.CA, 935 pazienti S-MAFLD di cui 244 non cirrotici e 691 cirrotici. Le caratteristiche di base dei pazienti inclusi nello studio sono espone nella Tabella VII. Una percentuale significativamente più alta di pazienti maschi era presente sia nel gruppo dei cirrotici che dei non cirrotici (86.1% e 74.4% rispettivamente; $p=0.0001$); inoltre, la popolazione di pazienti non cirrotici era tendenzialmente più anziana dei non cirrotici (72 anni vs 69 anni; $p<0.0001$). Come fattore di rischio, l'obesità (30.5% vs. 20.9%; $p=0.004$) e il diabete (76.6 % vs. 70.1%; $p=0.05$) erano più frequentemente associati ai pazienti cirrotici rispetto ai non cirrotici. L'ipercolesterolemia, invece, era più frequente nel sottogruppo di pazienti non cirrotici rispetto ai cirrotici (31.1% vs. 23.7%; $p=0.03$). Considerando le caratteristiche del tumore, nella maggior parte dei casi, in

entrambi i gruppi si trattava di una lesione monofocale, anche se i pazienti non cirrotici presentavano più frequentemente un tumore infiltrativo e massivo rispetto ai pazienti cirrotici (11.1% vs. 1.4%; $p < 0.0001$), probabilmente dovuto all'assenza di sorveglianza nei pazienti non cirrotici e coerente con i risultati ottenuti nei pazienti NAFLD. Anche in questo caso, si trattava tendenzialmente di una lesione singola ($p = 0.0008$) ma con un diametro maggiore nei pazienti non cirrotici rispetto ai pazienti cirrotici (5 cm vs. 3 cm; $p < 0.0001$).

Riguardo le caratteristiche di invasività microvascolare, non vi sono delle differenze statisticamente significative nei due gruppi (11.1% vs. 11.9%; $p = 0.73$). Diversamente da quanto accade nei pazienti NAFLD non cirrotici, in questo caso, gli S-MAFLD non cirrotici sono più frequentemente associati, in maniera significativa, ad estensione extraepatica rispetto ai cirrotici (12.7% vs. 8.1%; $p = 0.04$). Analizzando il trattamento, i pazienti non cirrotici sono più frequentemente sottoposti a resezione epatica, probabilmente dovuto ad un fegato meno compromesso, rispetto ai pazienti cirrotici (40.2% vs 17.9%; $p < 0.0001$). Questi ultimi sono maggiormente sottoposti ad ablazione rispetto ai non cirrotici (33.1% vs 16.8%; $p < 0.0001$). Inoltre, si evidenzia come i pazienti non cirrotici siano più frequentemente sottoposti a terapia sistemica (SOR) rispetto ai cirrotici (16.0 % vs. 7.2%; $p < 0.0001$). Confrontando i parametri bioumorali, nei pazienti non cirrotici si riscontra un'albumina più elevata rispetto ai cirrotici (3.8g/dL vs 3.6g/dL; $p = 0.0006$) e una bilirubina (0.8 mg/dL vs. 1.1; $p < 0.0001$) e un INR ridotti (1.10 vs 1.19; $p > 0.0001$). I pazienti non cirrotici presentano, inoltre, una conta piastrinica maggiore rispetto ai pazienti cirrotici (188×10^9 vs. 107×10^9 ; $p < 0.0001$). Anche in questo caso, coerentemente con quanto descritto precedentemente, i pazienti cirrotici presentano una glicemia a digiuno tendenzialmente maggiore rispetto ai pazienti non cirrotici (119 mg/dL vs 112 mg/dL; $p = 0.042$). Inoltre, nei pazienti cirrotici si riscontra un valore significativamente più elevato di AFP rispetto ai non cirrotici (6.8 vs 4.9; $p = 0.02$). Il MELD score risulta più elevato nei pazienti cirrotici rispetto ai pazienti non cirrotici (10 vs. 8; $p < 0.0001$). Nei pazienti non cirrotici si sono registrati più spesso casi di Child-Pugh A (83.2% vs. 58.6%; $p < 0.0001$), diversamente dai pazienti

cirrotici che presentano più frequentemente uno stadio B (35.7% vs. 16.8; $p < 0.0001$) e C (5.3% vs. 0%; $p < 0.0001$). Nei pazienti non cirrotici è più frequente un tumore BCLC stadio A (43.9 vs. 37.9%; $p = 0.0009$), inoltre, nei cirrotici è più frequente lo stadio D (7.5% vs. 1.2%; $p = 0.0009$).

Tabella VII. Caratteristiche di base dei pazienti S-MAFLD.

Variabile	Totale (n=935)	Non-cirrotici (n=244, 26.1%)	Cirrotici (n=691, 73.9%)	P
Sesso				
Maschi	724 (77.4)	210 (86.1)	514 (74.4)	0.0001
Femmine	211 (22.6)	34 (13.9)	177 (25.6)	
Età	70 (64-76)	72 (65-78)	69 (63-75)	<0.0001
BMI (kg/m ²)	28.0 (25.5-31.2)	27.9 (25.6-30.4)	28.0 (25.5-31.3)	0.89
Sorveglianza				
No	524 (56.0)	190 (77.9)	334 (48.3)	<0.0001
Sì	411 (44.0)	54 (22.1)	357 (51.7)	
Comorbidità				
Iperensione	528 (56.5)	137 (56.1)	391 (56.6)	0.94
Obesità	262 (28.0)	51 (20.9)	211 (30.5)	0.004
Ipercolesterolemia	240 (25.7)	76 (31.1)	164 (23.7)	0.03
Ipertrigliceridemia	139 (14.9)	36 (14.8)	103 (14.9)	0.99
Pre-diabete	194 (20.7)	46 (18.9)	148 (21.4)	0.41
Diabete	700 (74.9)	171 (70.1)	529 (76.6)	0.05
ECOG				
0	662 (70.8)	189 (77.5)	473 (68.5)	0.009
≥ 1	273 (29.2)	55 (22.5)	218 (31.5)	
Macroscopica				
Monofocale	485 (51.9)	130 (53.3)	355 (51.4)	<0.0001
Multifocale	365 (39.0)	71 (29.1)	294 (42.5)	
Infiltrativo	47 (5.0)	16 (6.6)	31 (4.5)	
Massivo	37 (4.0)	27 (11.1)	10 (1.4)	
Numero	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	0.0008
Diametro (cm)	3.2 (2.1-5.6)	5.0 (3.0-9.0)	3.0 (2.0-4.8)	<0.0001
MVI				
Sì	106 (11.3)	29 (11.9)	77 (11.1)	0.73
No	829 (88.7)	215 (88.1)	614 (88.9)	
EHS				
Sì	87 (9.3)	31 (12.7)	56 (8.1)	0.04
No	848 (90.7)	213 (87.3)	635 (91.9)	
Primo trattamento				
LT	18 (1.9)	3 (1.2)	15 (2.2)	<0.0001
LR	211 (22.6)	92 (37.7)	119 (28.8)	
ABL	265 (28.3)	44 (18.0)	221 (32.0)	
IAT	263 (28.1)	47 (19.3)	216 (31.3)	
SOR	87 (9.3)	38 (15.6)	49 (7.1)	
BSC	91 (9.7)	20 (8.2)	71 (10.3)	
Trattamento principale				
LT	56 (6.0)	6 (2.5)	50 (7.2)	<0.0001
LR	222 (23.7)	98 (40.2)	124 (17.9)	
ABL	270 (28.9)	41 (16.8)	229 (33.1)	
IAT	207 (22.1)	42 (17.2)	165 (23.9)	
SOR	89 (9.5)	39 (16.0)	50 (7.2)	

BSC	91 (9.7)	18 (7.4)	73 (10.6)	
Albumina (g/dL)	3.6 (3.2-4.0)	3.8 (3.4-4.1)	3.6 (3.1-4.0)	0.0006
Bilirubina (mg/dL)	1.0 (0.7-1.5)	0.8 (0.5-1.0)	1.1 (0.8-1.7)	<0.0001
INR	1.16 (1.07-1.29)	1.10 (1.03-1.20)	1.19 (1.10-1.30)	<0.0001
AFP (ng/mL)	6.4 (3.2-43.2)	4.9 (2.6-47.4)	6.8 (3.4-41.5)	0.02
Creatinina (mg/dL)	0.90 (0.75-1.10)	0.92 (0.79-1.15)	0.90 (0.73-1.10)	0.047
PLT (x 10 ⁹ /L)	123 (84-189)	188 (144-262)	107 (75-160)	<0.0001
Glucosio (mg/dL)	118 (100-151)	112 (100-140)	119 (100-157)	0.047
Colesterolo (mg/dL)	154 (127-181)	166 (139-188)	150 (125-180)	0.007
HDL (mg/dL)	41 (34-52)	41 (33-50)	42 (34-54)	0.23
Trigliceridi (mg/dL)	103 (77-142)	114 (91-160)	100 (73-138)	0.0006
MELD	9 (8-12)	8 (7-10)	10 (8-13)	<0.0001
Classe Child-Pugh				
A	604 (64.6)	203 (83.2)	405 (58.6)	<0.0001
B	291 (31.1)	41 (16.8)	247 (35.7)	
C	40 (4.3)	0 (0.0)	39 (5.6)	
Stadio BCLC				
0	85 (9.1)	15 (6.1)	70 (10.1)	0.0009
A	369 (39.5)	107 (43.9)	262 (37.9)	
B	139 (14.9)	43 (17.6)	96 (13.9)	
C	287 (30.7)	76 (31.1)	211 (30.5)	
D	55 (5.9)	3 (1.2)	52 (7.5)	

Abbreviazioni: BMI, indice di massa corporea; ECOG, Performance Status; MVI, invasione macrovascolare; EHS, diffusione extraepatica; LT, trapianto epatico, LR, resezione epatica; SOR, Sorafenib; BSC, trattamento sintomatico sistemico; AFP, alfafetoproteina; PLT, alfafetoproteina; HDL, lipoproteine ad alta densità; MELD, model for endstage liver disease; BCLC, Barcelona clinic liver cancer.

4.2.2 CONFRONTO SCORE DI FIBROSI PAZIENTI S-MAFLD

Nella Tabella VIII. sono riportati i risultati delle analisi riguardo la valutazione dell'attendibilità dei vari score di fibrosi nell'individuare il rischio di HCC nei pazienti con MAFLD-HCC confrontando pazienti cirrotici e non cirrotici.

Il NAFLD fibrosis score (NFS) analizza i pazienti in base all'età. Si evidenzia come, anche nei pazienti S-MAFLD, non dia risultati soddisfacenti nell'individuare, tra i pazienti non cirrotici, quelli a rischio di HCC (32.6% <65anni; $p<0.0001$; 50.3%>65; $p<0.0001$). Da ovviamente risultati migliori nel sottogruppo dei cirrotici in quanto rivela il 66.7% dei pazienti di età <65 anni ($p<0.0001$) e il 74.3% dei pazienti di età>65 anni ($p=0.01$). L'APRI, anche in questo contesto, non si conferma uno score valido nel predire i pazienti a rischio di HCC individuando il 54.5% e il 33.8% ($p<0.0001$) rispettivamente dei pazienti cirrotici e non cirrotici. Coerentemente

con quanto accade nella coorte di pazienti NAFLD, gli unici due score che si sono rivelati attendibili, sia nei pazienti cirrotici, ma anche nei pazienti non cirrotici e che potrebbero risultare utili per selezionare i pazienti con S-MAFLD ad alto rischio di HCC da sottoporre a sorveglianza sono il BARD e il FIB-4. Il BARD è riuscito a discriminare il 76.5% dei pazienti cirrotici e il 63.1% dei pazienti non cirrotici ($p=0.0004$). Il FIB-4, che stratifica i pazienti in base all'età, è riuscito a discriminare l'83.7% dei pazienti cirrotici rispetto al 56.5% ($p=0.0001$) dei pazienti non cirrotici (età<65 anni) e rispettivamente l'86.42% e il 71.6% ($p=0.0001$) dei pazienti cirrotici e non cirrotici (età>65 anni). Anche in questo caso, il FIB-4 è più efficace nel classificare i pazienti a rischio intermedio di fibrosi nel sottogruppo di pazienti non cirrotici (26.1%vs 7%; $p=0.0001$). Da questi risultati si evidenzia come il BARD si confermi un buon predittore, seppur minor efficiente rispetto alla coorte di pazienti NAFLD, di rischio di HCC anche nei pazienti S-MAFLD. Il FIB-4, si conferma anch'esso efficiente, specialmente tra i pazienti di età>65 anni.

Tabella VIII. Confronto degli score di fibrosi in pazienti S-MAFLD.

Model	Totale	Non-cirrotici	Cirrotici	P
NAFLD fibrosis score *				
Età ≤ 65 anni	n=220	n=46	n=174	
< -1.455	30 (13.6)	14 (30.4)	16 (9.2)	<0.0001
- 1.455-0.676	59 (26.8)	17 (37.0)	42 (24.1)	
> 0.676	131 (59.5)	15 (32.6)	116 (66.7)	
Età > 65 anni	n=554	n=149	n=405	
< 0.12	178 (32.1)	74 (49.7)	104 (25.7)	<0.0001
≥ 0.12	376 (67.9)	75 (50.3)	301 (74.3)	
FIB-4 index **				
Età ≤ 65 anni	n=218	n=46	n=172	
< 1.30	24 (11.0)	8 (17.4)	16 (9.3)	0.0001
1.30-2.67	24 (11.0)	12 (26.1)	12 (7.0)	
> 2.67	170 (78.0)	26 (56.5)	144 (83.7)	
Età > 65 anni	n=552	n=148	n=404	
<2.0	97 (17.6)	42 (28.4)	55 (13.6)	0.0001
≥ 2.0	455 (82.4)	106 (71.6)	349 (86.4)	
APRI ***	n=809	n=204	n=605	
≤ 1	410 (50.7)	135 (66.2)	275 (45.5)	<0.0001
> 1	399 (49.3)	69 (33.8)	330 (54.5)	
BARD score ****	n=774	n=195	n=579	
≤ 2	208 (26.9)	72 (36.9)	136 (23.5)	0.0004
> 2	566 (73.1)	123 (63.1)	443 (76.5)	

* Disponibile in 774 pazienti, ** Disponibile in 770 pazienti, *** Disponibile in 809 pazienti, **** Disponibile in 774 pazienti.

4.2.3.1 PERFORMANCE DEGLI SCORE IN PAZIENTI S-MAFLD NON CIRROTICI

Nella Tabella IX, è stata confrontata l'efficienza degli score di fibrosi nel predire l'insorgenza di HCC, retrospettivamente, in 244 pazienti MAFLD non cirrotici a seconda delle categorie di rischio individuate dai singoli score. Anche in questo caso, per quanto riguarda il NFS e il FIB-4, ogni paziente è stato classificato in base al cut-off (65 anni) stabilito per la sua età. Il FIB-4 si è dimostrato significativamente più efficiente rispetto al NAFLD fibrosis score (NFS) nel predire l'insorgenza di HCC nei pazienti non cirrotici. Rispetto al NAFLD fibrosis score, il FIB-4 classifica un numero maggiore di pazienti nella categoria ad alto rischio di fibrosi (74.2% vs. 54.9%, $p < 0.0001$). Il FIB-4 anche in questo caso si evidenzia più efficiente dell'APRI, in quanto classifica un maggior numero di pazienti nella categoria ad alto rischio rispetto all'APRI (74.2% vs. 33.8%; $p < 0.0001$). Confrontando l'APRI e il NFS, anche in questo caso, quest'ultimo risulta lievemente ma non sufficientemente più efficace rispetto all'APRI nel classificare i pazienti ad alto rischio di fibrosi (54.9% vs. 33.8%; $p = 0.03$). Nella coorte di pazienti con S-MAFLD, invece, il BARD non si è rivelato significativamente più efficiente del NFS, classificando il 63.1% dei pazienti come ad alto rischio, rispetto al 54.9% del NFS ($p = 0.12$). Il BARD si è dimostrato, invece, statisticamente più efficiente rispetto all'APRI, classificando quasi il doppio dei pazienti come ad alto rischio di fibrosi: 63.1% dei pazienti individuati dal BARD rispetto al 33.8% individuati dall'APRI ($p < 0.0001$). Anche in questa coorte di pazienti, i due score che si sono rivelati più efficaci nel discriminare i pazienti ad alto rischio di fibrosi sono il FIB-4 e BARD, tuttavia, come si evidenzia dalla Tabella IX, in questo caso, comparando l'efficienza del FIB-4 e del BARD vi è una significativa differenza di efficienza in quanto il FIB-4 classifica più pazienti come ad alto rischio di fibrosi rispetto al BARD e il 74.2% e il 63.1% ($p = 0.02$). Da questi risultati, come per quanto accade nella coorte di pazienti NAFLD, il FIB-4 e il BARD potrebbero essere efficaci nel predire quali pazienti S-MAFLD non cirrotici potrebbero essere sottoposti a sorveglianza per predire il rischio di insorgenza di HCC. Tuttavia, ciò che differenzia queste due coorti, è che, nella popolazione di pazienti S-MAFLD, lo score più efficiente tra i due è il FIB-4, diversamente da quanto accade nella coorte di pazienti NAFLD in cui

i due score (FIB-4 e BARD), non presentano una differenza di efficienza statisticamente significativa.

Tabella IX. Analisi Cox di confronto dei vari score di fibrosi nell'individuare i pazienti MAFLD non cirrotici a rischio di HCC.

	Low-risk	High-risk	P
NAFLD fibrosis score	88 (45.1)	107 (54.9)	<0.0001
FIB-4	50 (25.8)	144 (74.2)	
NAFLD fibrosis score	88 (45.1)	107 (54.9)	<0.0001
APRI	135 (66.2)	69 (33.8)	
NAFLD fibrosis score	88 (45.1)	107 (54.9)	0.12
BARD	72 (36.9)	123 (63.1)	
FIB-4	50 (25.8)	144 (74.2)	<0.0001
APRI	135 (66.2)	69 (33.8)	
FIB-4	50 (25.8)	144 (74.2)	0.02
BARD	72 (36.9)	123 (63.1)	
APRI	135 (66.2)	69 (33.8)	<0.0001
BARD	72 (36.9)	123 (63.1)	

Nella Tabella sono mostrate le percentuali di riga e non di colonna.

4.2.4 CONFRONTO SOPRAVVIVENZA MEDIANA

Si sono confrontate le curve di sopravvivenza mediana nella popolazione in studio, prendendo in considerazione diverse comorbidità che si sono dimostrate rilevanti nello sviluppo di HCC nella NAFLD. Tra i pazienti cirrotici e non cirrotici, anche in questo caso, non si evidenzia una diversa sopravvivenza in maniera significativa: non cirrotici 48.0 mesi (95% CI 30.9-65.1) rispetto ai 37.1 mesi dei cirrotici (95% CI 32.7-41.5; p=0.58).

Come si può notare dalla Figura 10., diversamente da quanto si è rivelato nei pazienti NAFLD, nella coorte S-MAFLD non vi è una sostanziale differenza di sopravvivenza tra i pazienti con o senza comorbidità associate al carcinoma epatocellulare: no ipertensione arteriosa 39.9 mesi (95% CI 31.2-48.5), ipertensione arteriosa 37.0 mesi (95% CI 31.9-42.2; p=0.53); no obesità 43.0 mesi (95% CI 35.2-50.8), obesità 36.0 mesi (95% CI 27.8-44.2; p=0.10); no ipercolesterolemia 40.1 mesi (95% CI 33.1-47.2), ipercolesterolemia: 39.2 mesi (95% CI 29.6-48.8; p=0.69); no diabete: 37.1 mesi (95% CI 28.2-46.0, diabete: 39.3 mesi (95% CI 33.5-45.2; p=0.82). Diversamente da quanto accade nella coorte di pazienti NAFLD, nei pazienti S-MAFLD, l'obesità e l'ipertensione arteriosa sembrano non avere un ruolo statisticamente significativo, nel determinare la prognosi del paziente affetto da HCC.

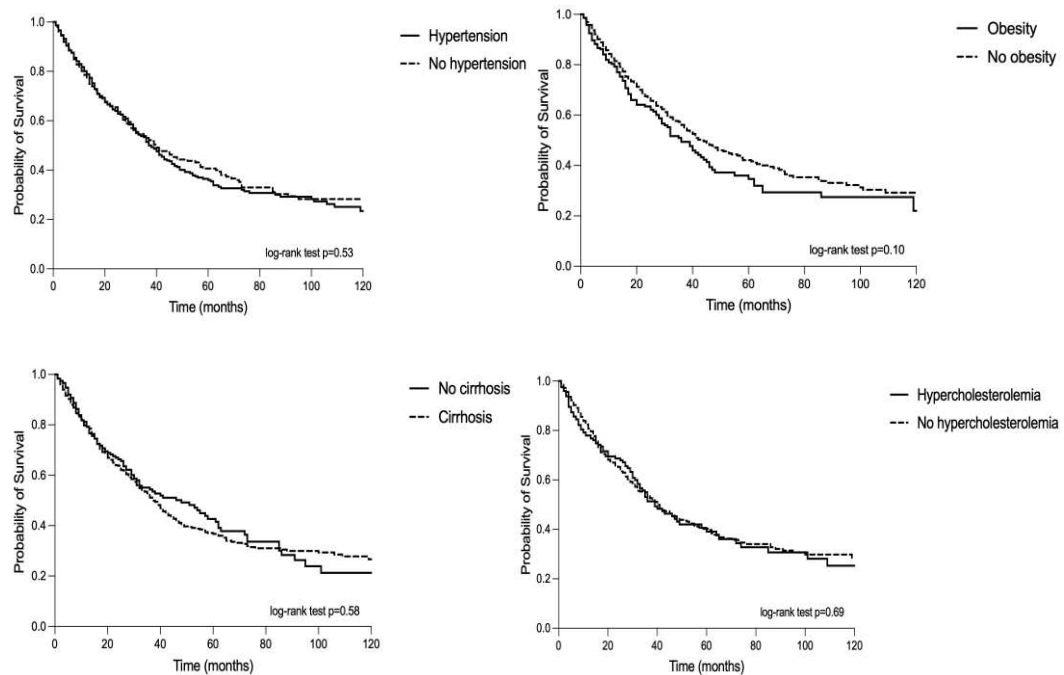


Fig.10 Curve di sopravvivenza mediana di pazienti con/senza comorbidità associate: ipertensione arteriosa, obesità, cirrosi, ipercolesterolemia.

Anche nella coorte di pazienti S-MAFLD, i predittori indipendenti di sopravvivenza si sono valutati mediante l'analisi di regressione di Cox univariata e multivariata (Tabella X). Tra i fattori relativi al paziente sembrano essere associati con la prognosi l'età (HR=1.03, IC 95%, 1.02-1.04; $p<0.0001$), ECOG>1 (HR=2.51, IC 95%, 2.06-3.06 $p<0.0001$). Tra i fattori relativi al tumore sono fattori di rischio il numero (HR=1.10, IC 95%, 1.07-1.14; $p<0.0001$) e diametro (HR= 1.04, IC 95%, 1.02-1.06; $p<0.0001$) dei noduli, MELD (HR=1.09, IC 95%, 1.07-1.14; $p<0.0001$), MVI (HR=4.70, IC 95%, 3.64-6.06; $p<0.0001$), EHS (HR=3.62, IC 95%, 2.68-4.89; $p<0.0001$) e uno stadio Child-Pugh e BCLC più avanzato. Risultano invece associati con una migliore sopravvivenza, la sorveglianza (HR=0.70, IC 95%, 0.58-0.86; $p=0.0004$) e il trattamento principale con un trend decrescente secondo la seguente gerarchia terapeutica LT>LR>ABL>IAT. Dopo correzione per i fattori confondenti all'analisi multivariata, gli unici fattori associati in maniera indipendente alla sopravvivenza sono risultati essere il trattamento principale (con un aumento del rischio di mortalità crescente da terapie curative a terapie progressivamente meno radicali), il MELD (HR 1.07, IC 95%,1.03-1.11; $p<0.0001$) e

lo stadio BCLC con aumento del rischio di mortalità passando da uno stadio BCLC più basso ad uno più alto.

Tabella.X Analisi di regressione logistica univariata e multivariata dei fattori associati alla sopravvivenza nella coorte S-MAFLD.

Variabili	Analisi Univariata		Analisi Multivariata	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
Cirrosi				
No	-	-	-	-
Yes	1.06 (0.86-1.32)	0.59	-	-
Sex				
Femmine	-	-	-	-
Maschi	0.82 (0.66-1.02)	0.08	0.85 (0.65-1.11)	0.24
Età	1.03 (1.02-1.04)	<0.0001	1.00 (0.99-1.02)	0.59
BMI (kg/m ²)	1.00 (0.98-1.03)	0.80	-	-
Sorveglianza				
No	-	-	-	-
Yes	0.70 (0.58-0.86)	0.0004	0.80 (0.63-1.02)	0.07
Iperensione				
No	-	-	-	-
Sì	1.06 (0.88-1.28)	0.54	-	-
Obesità				
No	-	-	-	-
Sì	1.21 (0.96-1.51)	0.10	-	-
Ipercolesterolemia				
No	-	-	-	-
Sì	1.05 (0.83-1.33)	0.70	-	-
Ipertrigliceridemia				
No	-	-	-	-
Sì	1.04 (0.78-1.38)	0.79	-	-
Diabete				
No	-	-	-	-
Sì	1.03 (0.83-1.27)	0.81	-	-
ECOG				
0	-	-	-	-
≥ 1	2.51 (2.06-3.06)	<0.0001	-	-
Numero	1.10 (1.07-1.14)	<0.0001	-	-
Diametro (cm)	1.04 (1.02-1.06)	<0.0001	-	-
MVI				

No	-	-	-	-
Si	4.70 (3.64-6.06)	<0.0001	-	-
EHS				
No	-	-	-	-
Si	3.62 (2.68-4.89)	<0.0001	-	-
Principale trattamento				
BSC/OTHER	-	-	-	-
LT	0.02 (0.01-0.06)	<0.0001	0.02 (0.01-0.07)	<0.0001
LR	0.11 (0.08-0.16)	<0.0001	0.15 (0.09-0.23)	<0.0001
ABL	0.16 (0.12-0.23)	<0.0001	0.18 (0.12-0.28)	<0.0001
IAT	0.32 (0.23-0.45)	0.25	0.33 (0.22-0.48)	0.02
SOR	0.81 (0.56-1.16)		0.61 (0.40-0.94)	
MELD	1.09 (1.07-1.12)	<0.0001	1.07 (1.03-1.11)	0.0001
Child-Pugh				
A	-	-		
B	2.45 (1.99-3.02)	<0.0001		
C	3.20 (2.08-4.94)	<0.0001	-	-
Stadio BCLC				
0	-	-	-	-
A	2.73 (1.63-4.58)	0.0001	2.61 (1.39-4.87)	0.003
B	3.92 (2.27-6.78)	<0.0001	2.26 (1.14-4.51)	<0.0001
C	6.90 (4.12-11.55)	<0.0001	3.91 (2.05-7.43)	<0.0001
D	10.79 (5.96-19.54)		4.70 (2.16-10.21)	

Abbreviazioni: BMI, indice di massa corporea; ECOG, Performance Status; MVI, invasione macrovascolare; EHS, diffusione extraepatica; LT, trapianto epatico, LR, resezione epatica; SOR, Sorafenib; BSC, trattamento sintomatico sistemico; AFP, alfafetoproteina; PLT, alfafetoproteina; HDL, lipoproteine ad alta densità; MELD, model for endstage liver disease; BCLC, Barcelona clinic liver cancer.

5. DISCUSSIONE

La NAFLD sta divenendo la causa più frequente di epatopatia, diagnosticata nel 17-46% degli adulti (1), costituendo, inoltre, tra le più frequenti cause di cirrosi del mondo Occidentale (3). Questo anche a seguito dell'introduzione dei direct acting virals (DAAs) per il trattamento del virus dell'epatite C (HCV) e di una buona campagna vaccinale per la profilassi del virus dell'epatite B (HBV) che hanno consentito una netta diminuzione dei casi di cirrosi virus correlata. La NAFLD sta divenendo, di conseguenza, una delle cause maggiori di HCC nel mondo, così come dimostrato dal nostro studio. Data la rapida crescita del peso globale della NAFLD e la difficoltà nell'individuare quali pazienti sono ad alto rischio di sviluppo di HCC e che, quindi, necessitano di sorveglianza, specialmente tra i pazienti non cirrotici, lo scopo del nostro studio è stato quello di validare dei metodi non invasivi di valutazione del rischio in modo da identificare i pazienti meritevoli di sorveglianza per consentire una diagnosi più precoce del tumore. Nel nostro studio è stata considerata una coorte di 472 pazienti con NAFLD-HCC dal database ITA.LI.CA, in cui sono inclusi 9754 pazienti con diagnosi di HCC con diverse eziologie. Si sono valutati i trend epidemiologici delle più frequenti eziologie di carcinoma epatocellulare confrontando la NAFLD con l'eziologia virale (HBV e HCV) e l'alcool correlata: si è dimostrato come l'eziologia NAFLD è aumentata rispetto alle altre eziologie e come i dati siano comparabili alla letteratura (3). Nel nostro studio, si è riscontrato un significativo aumento dell'incidenza dei casi di NAFLD-HCC passando da 0.4% nel biennio 2000-2001 al 14.2% nel biennio 2018-2019 ($p < 0.0001$). I casi di HBV-HCC sono rimasti sostanzialmente costanti, diversamente dai casi HCV-HCC che sono andati incontro ad una diminuzione del trend evolvendo da un 68.1% del biennio 2000-2001 al 54.9% del biennio 2018-2019 ($p = 0.03$). L'eziologia NAFLD ha già superato l'eziologia HBV e dovrebbe superare l'eziologia alcolica fra circa 2-3 anni, in linea con quanto descritto in letteratura secondo cui la NAFLD costituirà l'eziologia prevalente di HCC nel 2030 (3). Al fine di ottenere una risposta allo scopo dello studio, si è successivamente suddivisa la coorte di 472 pazienti NAFLD in due sottopopolazioni di 135 pazienti non cirrotici e 337 pazienti cirrotici per comparare le caratteristiche demografiche, tumorali e

biomorali più frequenti nelle popolazioni per valutare se vi fosse una differenza significativa di presentazione clinica e demografica dei due sottogruppi. Si è rivelato come i pazienti cirrotici siano più frequentemente diabetici rispetto ai pazienti non cirrotici: tra i 337 pazienti cirrotici, 258 tra loro (76.6%; $p=0.006$) presentavano diabete mellito di tipo 2, coerente con quanto descritto in letteratura (44) in cui si è riscontrato, in una popolazione di 354 pazienti cirrotici con NAFLD, 253 pazienti con diabete mellito di tipo 2 (71%). Probabilmente in questi pazienti, il diabete di tipo 2, determina un aumento del rischio di insorgenza di NAFLD e, allo stesso tempo, di evoluzione del danno epatico verso NASH (45,46), cirrosi e HCC. Secondo Yang, et al. (45), si rivela associato positivamente all'analisi univariata (HR = 1.4; 95% CI = 1.1-1.8; $P < 0.01$) e multivariata (HR = 1.3; 95% CI = 1.0-1.7; $P = 0.03$). Nel nostro studio, come atteso, si è rivelato come la maggior parte dei pazienti cirrotici presenti un tumore più frequentemente di piccole dimensioni, non infiltrativo né massivo, rispetto ai pazienti non cirrotici (1.2% vs. 4.4% di tumori massivi; $p=0.04$), questo dovuto probabilmente al fatto che i pazienti cirrotici sono più frequentemente sottoposti a sorveglianza, consentendo di valutare un'eventuale progressione del danno epatico e di effettuare una diagnosi più precoce rispetto ai pazienti non cirrotici. Il fatto che i tumori nei pazienti NAFLD non cirrotici siano di più grandi dimensioni, più spesso metastatici e massivi rispetto ai pazienti cirrotici può scaturire dal fatto che i pazienti NAFLD, presentano diversi fattori che ostacolano le strategie di sorveglianza. In primo luogo, attualmente l'incidenza di NAFLD-HCC è ancora inferiore a quella dell'HCC virale, riducendo così il rapporto costo-efficacia dei programmi di screening. In secondo luogo, a differenza dell'HCC associato all'epatite B/C, il 20%-50% dei NAFLD-HCC si sviluppa senza una cirrosi sottostante (48,49). In terzo luogo, il grasso sottocutaneo e la steatosi epatica nei pazienti obesi ostacolano l'esame ecografico. Per tali motivi, lo scopo del nostro studio è stato quello di confrontare, in una popolazione di pazienti con NAFLD-HCC, retrospettivamente, alcuni score di fibrosi (NAFLD fibrosis score, FIB-4, APRI, BARD) con lo scopo di identificare, specialmente nella popolazione di pazienti non cirrotici, la prevalenza dei pazienti ad alto rischio e meritevoli di sorveglianza. Il NFS e il FIB-4 stratificano i pazienti in base all'età, con un cut-off di 65 anni. Il

nostro studio conferma una ottima efficacia sia del BARD score che del FIB-4, nei pazienti con NAFLD-HCC (56,57). Nel contesto della popolazione di pazienti NAFLD, i due score sono efficaci sia nei pazienti cirrotici, ma anche nei non cirrotici: il FIB-4 e il BARD rivelano una buona performance (52), migliore rispetto all'APRI e al NFS, invece, non ci sono delle differenze statisticamente significative di efficienza tra il FIB-4 e il BARD (72.8% vs 69%; $p=0.65$). Sono state, inoltre, confrontate le curve di sopravvivenza mediana dei pazienti NAFLD e si è notato che vi è una differenza di sopravvivenza tra i pazienti con ipertensione arteriosa rispetto ai pazienti senza ipertensione arteriosa (39 mesi vs. 57.4 mesi; $p=0.04$) e nei pazienti obesi rispetto ai pazienti non obesi (37 mesi vs. 52 mesi; $p=0.02$). Non si evidenzia differenza nella prognosi di pazienti con/senza diabete e con/senza ipercolesterolemia. Secondo i nostri dati, gli unici fattori associati in maniera indipendente alla sopravvivenza sono risultati essere la diagnosi in sorveglianza ($HR=0.61$, IC 95%, 0.37-1.00; $p=0.05$) ed il trattamento principale (con un aumento del rischio di mortalità crescente da terapie curative a terapie progressivamente meno radicali). Recentemente è stato proposto il termine MAFLD (steatosi epatica associata a disfunzione metabolica) che ha trasformato la diagnosi di NAFLD da un criterio di esclusione ad uno di inclusione valutando pazienti con steatosi epatica che presentano le seguenti tre condizioni metaboliche: obesità/sovrappeso, diabete e disregolazione metabolica, da sole o in combinazione, suddividendoli in S-MAFLD (eziologia singola) e M-MAFLD (eziologia mista) (18). Abbiamo voluto valutare la performance degli score anche nei pazienti con epatopatia metabolica definita come MAFLD. Dal database ITA.LI.CA sono stati individuati 935 pazienti S-MAFLD-HCC tra cui 681 cirrotici e 244 non cirrotici. Si è effettuata una valutazione dei trend epidemiologici delle cause più frequenti di HCC comparandole con S-MAFLD-HCC: si è passati da un 0.87% di pazienti con S-MAFLD nel biennio 2000-2001 ad un 21.32% nel biennio 2018-2019, contemporaneamente, la proporzione di pazienti con HCV-HCC è diminuita nel tempo dal 68 al 50.3%, mentre la popolazione di pazienti affetti da HBV-HCC ed HCC alcol correlata si sono mantenuti costanti. L'eziologia S-MAFLD-HCC ha già superato quella HBV correlata e quella alcolica, così come descritto da Vitale. A. et al. In accordo con il lavoro di Vitale A. et al., la maggior parte dei pazienti S-MAFLD sono cirrotici (73.9% vs.

85,6%). Inoltre, la sottopopolazione di pazienti S-MAFLD non cirrotici è più anziana, con tumori più grandi e infiltrativi, rispetto alla popolazione di pazienti S-MAFLD cirrotici. Secondo le nostre analisi, i pazienti cirrotici sono più frequentemente obesi (30.5% vs. 20.9%; $p=0.004$) e diabetici (76.6 % vs. 70.1%; $p=0.05$) rispetto ai non cirrotici, dovuto al fatto che il diabete e l'obesità possono determinare una progressione del danno epatico. Inoltre, la notevole differenza nella sorveglianza tra la popolazione di pazienti cirrotici e non cirrotici potrebbe spiegare perché, in questi ultimi, i carcinomi epatocellulari risultino più grandi (5 cm vs. 3 cm; $p<0.0001$), più frequentemente multinodulari, metastatici, ma con minor valore di alfafetoproteina rispetto ai cirrotici (4.9 ng/mL vs 6.8 ng/mL; $p=0.02$) coerentemente con quanto accade nei pazienti NAFLD non cirrotici e con la letteratura (49,18).

Anche in questo caso, in linea lo scopo del nostro studio, è stata effettuata una valutazione degli score di fibrosi nei pazienti S-MAFLD con lo scopo di identificare i pazienti ad alto rischio e quindi tra questi sottoporre a sorveglianza. Il nostro studio, anche in questo caso, conferma una ottima efficacia sia del BARD score che del FIB-4 nei pazienti con MAFLD-HCC anche se in questo caso non vi sono molte evidenze in letteratura, in quanto gli score di fibrosi non sono stati ancora validati nei pazienti MAFLD. I nostri risultati riguardo i pazienti S-MAFLD, confermano una buona efficacia del BARD classificando il 63.1% dei pazienti come ad alto rischio, ma soprattutto del FIB-4 che presenta una sensibilità significativamente maggiore (74.2%; $p=0.02$), sono discordanti con i dati di Wu YL, Kumar R, et al.(53) il quale evidenzia come il BARD non sia efficace nel contesto di pazienti MAFLD nel valutare il rischio di fibrosi avanzata. In accordo con quanto definito da Wu YL, Kumar R, et al.(53), l'APRI non si è dimostrato un buon marcatore nel classificare i pazienti ad alto rischio non cirrotici, classificando unicamente il 33.8% dei pazienti come ad alto rischio. Probabilmente la scarsa efficacia del NFS e dell'APRI rilevata dal nostro studio è dovuta al fatto che, nel contesto di pazienti S-MAFLD, bisognerebbe utilizzare diversi cut-off, rispetto a quelli utilizzati per i pazienti NAFLD per identificare i pazienti a rischio di fibrosi avanzata (53). Gli unici fattori che si sono rivelati associati in maniera indipendente dalla sopravvivenza sono

risultati essere il trattamento principale (con un aumento del rischio di mortalità crescente da terapie curative a terapie progressivamente meno radicali), il MELD (HR 1.07, IC 95%,1.03-1.11; $p < 0.0001$) e lo stadio BCLC con aumento del rischio di mortalità passando da uno stadio BCLC più basso ad uno più alto.

Nonostante i suoi punti di forza (il poter attingere da un vasto database di pazienti, aggiornato ogni due anni), questo studio presenta alcuni limiti. Il principale limite è il disegno stesso dello studio: il metodo migliore per valutare l'efficacia degli score di fibrosi nell'identificare i pazienti ad alto rischio di insorgenza di HCC e che meritano sorveglianza sarebbe stato uno studio prospettico in cui si valuta, in una popolazione di pazienti NAFLD e MAFLD non cirrotici, se e quanti pazienti con score più elevato sviluppano HCC nel tempo, in modo tale da confermare che i pazienti con score più elevato sono effettivamente a maggior rischio di carcinoma epatocellulare. Un altro limite è dato dalla mancanza di un gruppo di controllo nella valutazione di questi score e il fatto che la valutazione degli score è stata effettuata ad HCC già sviluppato. Inoltre, la mancanza di alcuni parametri demografici e bioumorali nell'analisi di alcuni pazienti hanno impedito di individuare con certezza l'esatta coorte di pazienti S-MAFLD e di poter analizzare gli score di fibrosi in tutti i pazienti selezionati (NAFLD fibrosis score, FIB-4, APRI e BARD).

6. CONCLUSIONI

In conclusione, questo studio ha dimostrato come dal punto di vista epidemiologico, il trend di incidenza di NAFLD-HCC e MAFLD-HCC stia aumentando nel tempo, e sia seconda solo al HCV-HCC anche se è destinata a superarla in futuro. Secondo i nostri dati, i fattori che incidono maggiormente nella prognosi nei pazienti NAFLD sono risultati la diagnosi in sorveglianza e il trattamento principale, nei pazienti S-MAFLD il trattamento principale, il MELD e lo stadio BCLC con aumento del rischio passando da uno stadio BCLC più basso ad uno più alto. Poiché i pazienti non cirrotici NAFLD-HCC e MAFLD-HCC presentano più frequentemente noduli di dimensioni maggiori e tumori maggiormente invasivi e metastatici rispetto ai cirrotici, tendenzialmente sottoposti a sorveglianza, gli score BARD e FIB-4 potrebbero risultare dei buoni predittori di alto rischio di insorgenza di HCC, consentendo di individuare i pazienti ad alto rischio da sottoporre a sorveglianza per consentire una diagnosi più precoce del tumore. Nel contesto dei pazienti NAFLD non si è evidenziata differenza significativa di efficacia tra il BARD e il FIB-4, diversamente da quanto accade nei pazienti S-MAFLD in cui il FIB-4 si è dimostrato più efficiente. Quindi, questi score, ed in particolare il FIB-4, potrebbero essere validi per la stratificazione del rischio.

7. Bibliografia

1. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of Obesity (EASO). «EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease». *Obesity Facts* 9, n. 2 (2016): 65–90.
2. Byrne, Christopher D., e Giovanni Targher. 2015. «NAFLD: A Multisystem Disease». *Journal of Hepatology* 62 (1): 547–64. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.12.012>
3. Ioannou, George N. 2021. «Epidemiology and Risk-Stratification of NAFLD-Associated HCC». *Journal of Hepatology* 75 (6): 1476–84.
4. Zelber-Sagi, Shira, Roni Lotan, Amir Shlomai, Muriel Webb, Gil Harrari, Assaf Buch, Dorit Nitzan Kaluski, Zamir Halpern, e Ran Oren. «Predictors for Incidence and Remission of NAFLD in the General Population during a Seven-Year Prospective Follow-Up». *Journal of Hepatology* 56, n. 5 (maggio 2012): 1145–51.
5. Donnelly, Kerry L., Coleman I. Smith, Sarah J. Schwarzenberg, Jose Jessurun, Mark D. Boldt, e Elizabeth J. Parks. «Sources of Fatty Acids Stored in Liver and Secreted via Lipoproteins in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *Journal of Clinical Investigation* 115, n. 5 (2 maggio 2005): 1343–51.
6. Lewis, Gary F., André Carpentier, Khosrow Adeli, e Adria Giacca. «Disordered Fat Storage and Mobilization in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes». *Endocrine Reviews* 23, n. 2 (1 aprile 2002): 201–29.
7. Mundi, Manpreet S., Saketh Velapati, Janki Patel, Todd A. Kellogg, Barham K. Abu Dayyeh, e Ryan T. Hurt. «Evolution of NAFLD and Its Management». *Nutrition in Clinical Practice* 35, n. 1 (febbraio 2020): 72–84.
8. Loria, P., L.E. Adinolfi, S. Bellentani, E. Bugianesi, A. Grieco, S. Fargion, A. Gasbarrini, et al. 2010. «Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *Digestive and Liver Disease* 42 (4): 272–82.

9. Povsic, Manca, On Yee Wong, Richard Perry, e Juliana Bottomley. 2019. «A Structured Literature Review of the Epidemiology and Disease Burden of Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)». *Advances in Therapy* 36 (7): 1574–94.
10. Eslam, Mohammed, Luca Valenti, e Stefano Romeo. 2018. «Genetics and Epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical Impact». *Journal of Hepatology* 68 (2): 268–79.
11. Blachier, Martin, Henri Leleu, Markus Peck-Radosavljevic, Dominique-Charles Valla, e Françoise Roudot-Thoraval. «The Burden of Liver Disease in Europe: A Review of Available Epidemiological Data». *Journal of Hepatology* 58, n. 3 (marzo 2013): 593–608.
12. Byrne, Christopher D., e Giovanni Targher. 2015. «NAFLD: A Multisystem Disease». *Journal of Hepatology* 62 (1): S47–64.
13. Lee, Seung Soo. 2014. «Radiologic Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *World Journal of Gastroenterology* 20 (23): 7392.
14. Lee, Jenny, Yasaman Vali, Jerome Boursier, Rene Spijker, Quentin M. Anstee, Patrick M. Bossuyt, e Mohammad H. Zafarmand. 2021. «Prognostic Accuracy of FIB-4, NAFLD Fibrosis Score and APRI for NAFLD-related Events: A Systematic Review». *Liver International* 41 (2): 261–70.
15. Treeprasertsuk, Sombat. 2013. «NAFLD Fibrosis Score: A Prognostic Predictor for Mortality and Liver Complications among NAFLD Patients». *World Journal of Gastroenterology* 19 (8): 1219.
16. Peleg, Noam, Assaf Issachar, Orly Sneh-Arbib, e Amir Shlomai. 2017. «AST to Platelet Ratio Index and Fibrosis 4 Calculator Scores for Non-Invasive Assessment of Hepatic Fibrosis in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease». *Digestive and Liver Disease* 49 (10): 1133–38.
17. Baratta, Francesco, Daniele Pastori, Nicholas Cocomello, Domenico Ferro, Francesco Angelico, e Maria Del Ben. s.d. «FIBROSI EPATICA NEI PAZIENTI CON NAFLD: UN MARCATORE NON LIPIDICO DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE RESIDUO?», 11.

18. Angelico, Francesco, e Maria Del Ben. s.d. «STEATOSI EPATICA ASSOCIATA AD ALTERAZIONI METABOLICHE (MAFLD)», 7.
19. Vitale, Alessandro, Gianluca Svegliati-Baroni, Alessio Ortolani, Monica Cucco, Giulio V Dalla Riva, Edoardo G Giannini, Fabio Piscaglia, et al. 2021. «Epidemiological Trends and Trajectories of MAFLD-Associated Hepatocellular Carcinoma 2002–2033: The ITA.LI.CA Database». *Gut*, dicembre, gutjnl-2021-324915.
20. Huang, Jiaofeng, Weijie Ou, Mingfang Wang, Medha Singh, Yuxiu Liu, Shiyang Liu, Yinlian Wu, Yueyong Zhu, Rahul Kumar, e Su Lin. 2021. «MAFLD Criteria Guide the Subtyping of Patients with Fatty Liver Disease». *Risk Management and Healthcare Policy* Volume 14 (febbraio): 491–501.
21. Kondili, Loreta A., Andrea Marcellusi, Stephen Ryder, e Antonio Craxì. 2020. «Will the COVID-19 pandemic affect HCV disease burden?». *Digestive and Liver Disease* 52 (9): 947–49.
22. Caballería, Llorenç, Pere Torán, e Joan Caballería. 2018. «Markers of Hepatic Fibrosis». *Medicina Clínica (English Edition)* 150 (8): 310–16.
23. Altamirano-Barrera, Alejandra, Beatriz Barranco-Fragoso, e Nahum Méndez-Sánchez. 2017. «Management Strategies for Liver Fibrosis». *Annals of Hepatology* 16 (1): 48–56.
24. Ginès, Pere, Aleksander Krag, Juan G. Abraldes, Elsa Solà, Núria Fabrellas, e Patrick S. Kamath. 2021. «Liver Cirrhosis». *Lancet (London, England)* 398 (10308): 1359–76.
25. Roehlen, Natascha, Emilie Crouchet, e Thomas F. Baumert. 2020. «Liver Fibrosis: Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives». *Cells* 9 (4): 875.
26. Schuppan, Detlef, e Nezam H Afdhal. 2008. «Liver Cirrhosis». *The Lancet* 371 (9615): 838–51.
27. Peng, Ying, Xingshun Qi, e Xiaozhong Guo. 2016. «Child–Pugh Versus MELD Score for the Assessment of Prognosis in Liver Cirrhosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies». *Medicine* 95 (8): e2877.

28. <https://digestivedashboard.nl/2020/06/06/child-pugh-score/>- Digestive Disease Dashboard.
29. Flamm, Steven L. 2018. «Complications of Cirrhosis in Primary Care: Recognition and Management of Hepatic Encephalopathy». *The American Journal of the Medical Sciences* 356 (3): 296–303.
30. Buob, S., A.N. Johnston, e C.R.L. Webster. 2011. «Portal Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment: Portal Hypertension». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25 (2): 169–86.
31. Gunarathne, Lakmie S, Harinda Rajapaksha, Nicholas Shackel, Peter W Angus, e Chandana B Herath. 2020. «Cirrhotic portal hypertension: From pathophysiology to novel therapeutics». *World Journal of Gastroenterology* 26 (40): 6111–40.
32. Arroyo, Vicente. 2002. «Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Ascites in Cirrhosis». *Annals of Hepatology* 1 (2): 72–79.
33. Kim, Dae Won, Chetasi Talati, e Richard Kim. 2017. «Hepatocellular carcinoma (HCC): beyond sorafenib—chemotherapy». *Journal of Gastrointestinal Oncology* 8 (2): 256–65.
34. Huang, Daniel Q., Hashem B. El-Serag, e Rohit Loomba. 2021. «Global Epidemiology of NAFLD-Related HCC: Trends, Predictions, Risk Factors and Prevention». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 18 (4): 223–38.
35. Duseja, Ajay. «Staging of Hepatocellular Carcinoma». *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 4 (agosto 2014): S74–79.
36. Tang, Weiwei, Ziyi Chen, Wenling Zhang, Ye Cheng, Betty Zhang, Fan Wu, Qian Wang, et al. «The Mechanisms of Sorafenib Resistance in Hepatocellular Carcinoma: Theoretical Basis and Therapeutic Aspects». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 5, n. 1 (dicembre 2020): 87.
37. https://www.researchgate.net/figure/Barcelona-Clinic-Liver-Cancer-BCLC-classification-PST-Performance-Status-Test-fig1_284358229

38. Ferguson, Daniel, e Brian N. Finck. 2021. «Emerging Therapeutic Approaches for the Treatment of NAFLD and Type 2 Diabetes Mellitus». *Nature Reviews Endocrinology* 17 (8): 484–95.
39. Cichoż-Lach, Halina, Krzysztof Celiński, Beata Prozorow-Król, Jarosław Swatek, Maria Słomka, e Tomasz Lach. «The BARD Score and the NAFLD Fibrosis Score in the Assessment of Advanced Liver Fibrosis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research* 18, n. 12 (dicembre 2012): CR735-740.
40. Kanwal, Fasiha, e Amit G. Singal. «Surveillance for Hepatocellular Carcinoma: Current Best Practice and Future Direction». *Gastroenterology* 157, n. 1 (luglio 2019): 54–64.
41. Singal, Amit G., Pietro Lampertico, e Pierre Nahon. «Epidemiology and Surveillance for Hepatocellular Carcinoma: New Trends». *Journal of Hepatology* 72, n. 2 (febbraio 2020): 250–61.
42. Marengo, Andrea, Chiara Rosso, e Elisabetta Bugianesi. «Liver Cancer: Connections with Obesity, Fatty Liver, and Cirrhosis». *Annual Review of Medicine* 67, n. 1 (14 gennaio 2016): 103–17.
43. Yang, Ju Dong, Fowsiyo Ahmed, Kristin C. Mara, Benyam D. Addissie, Alina M. Allen, Gregory J. Gores, e Lewis R. Roberts. «Diabetes Is Associated With Increased Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients With Cirrhosis From Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *Hepatology* 71, n. 3 (marzo 2020): 907–16.
44. Williams, K. H., N. A. Shackel, M. D. Gorrell, S. V. McLennan, e S. M. Twigg. «Diabetes and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Pathogenic Duo». *Endocrine Reviews* 34, n. 1 (1 febbraio 2013): 84–129.
45. Bhala, Neeraj, Ramy Jouness, e Elisabetta Bugianesi. «Epidemiology and Natural History of Patients with NAFLD». *Current Pharmaceutical Design* 19, n. 29 (1 luglio 2013): 5169–76.
46. Foerster, Friedrich, Simon Johannes Gairing, Lukas Müller, e Peter Robert Galle. «NAFLD-Driven HCC: Safety and Efficacy of Current and Emerging Treatment Options». *Journal of Hepatology* 76, n. 2 (febbraio 2022): 446–57.

47. Piscaglia F.,Svegliati-Baroni G.,Barchetti A., Pecorelli A.,Marinelli S.,Tiribelli C.et al. «Clinical patterns of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver disease: a multicenter prospective study». *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2016; 63: 827-838
48. Kanwal F.,Kramer J.R.,Mapakshi S.,Natarajan Y.,Chayanupatkul M.,Richardson P.A.et al. «Risk of hepatocellular cancer in patients with non-alcoholic fatty liver disease». *Gastroenterology*. 2018; 155: 1828-1837.e2
49. Raszeja-Wyszomirska, Joanna, Barbara Szymanik, Małgorzata Ławniczak, Maciej Kajor, Alina Chwist, Piotr Milkiewicz, e Marek Hartleb. «Validation of the BARD Scoring System in Polish Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)». *BMC Gastroenterology* 10, n. 1 (dicembre 2010): 67.
50. Rigor, Joana, Andreia Diegues, José Presa, Pedro Barata, e Daniela Martins-Mendes. «Noninvasive Fibrosis Tools in NAFLD: Validation of APRI, BARD, FIB-4, NAFLD Fibrosis Score, and Hepamet Fibrosis Score in a Portuguese Population». *Postgraduate Medicine* 134, n. 4 (19 maggio 2022): 435–40.
51. Wu, Yin-Lian, Rahul Kumar, Ming-Fang Wang, Medha Singh, Jiao-Feng Huang, Yue-Yong Zhu, e Su Lin. «Validation of conventional non-invasive fibrosis scoring systems in patients with metabolic associated fatty liver disease». *World Journal of Gastroenterology* 27, n. 34 (14 settembre 2021): 5753–63.
52. Llovet, J. M. et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 359, 378–390 (2008). The first study demonstrating survival benefit for systemic therapies (sorafenib) in advanced HCC compared with placebo.
53. Kudo, M. et al. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 391, 1163–1173 (2018). This is the first study demonstrating a survival benefit similar to the standard of care sorafenib in advanced HCC compared with placebo.

54. Abou-Alfa, G. K. et al. Cabozantinib in patients with advanced and progressing hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **379**, 54–63 (2018).
55. Zhu, A. X. et al. Ramucirumab after sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma and increased α -fetoprotein concentrations (REACH-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* **20**, 282–296 (2019).
56. Vilar-Gomez, Eduardo, e Naga Chalasani. «Non-Invasive Assessment of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Clinical Prediction Rules and Blood-Based Biomarkers». *Journal of Hepatology* 68, n. 2 (febbraio 2018): 305–15.
57. Selçuk, Haldun. «Prognostic Factors and Staging Systems in Hepatocellular Carcinoma». *Experimental and Clinical Transplantation: Official Journal of the Middle East Society for Organ Transplantation* 15, n. Suppl 2 (marzo 2017): 45–49.
58. Desai, Aakash, Sonia Sandhu, Jin-Ping Lai, e Dalbir Singh Sandhu. «Hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic liver: A comprehensive review». *World Journal of Hepatology* 11, n. 1 (27 gennaio 2019): 1–18.
59. Leung, Christopher. «Characteristics of Hepatocellular Carcinoma in Cirrhotic and Non-Cirrhotic Non-Alcoholic Fatty Liver Disease». *World Journal of Gastroenterology* 21, n. 4 (2015): 1189.
60. Rich, Nicole E., Stefany Oji, Arjmand R. Mufti, Jeffrey D. Browning, Neehar D. Parikh, Mobolaji Odewole, Helen Mayo, e Amit G. Singal. «Racial and Ethnic Disparities in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Prevalence, Severity, and Outcomes in the United States: A Systematic Review and Meta-Analysis». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 16, n. 2 (febbraio 2018): 198-210.e2.
61. Merli M., Cardinale V., F. "Epatopatia alcol-correlata" "In:" "Malattie dell'apparato digerente" .2019-2022 Roma: Editrice Gastroenterologica Italiana S.r.l.; 2019. 225-241.
62. Scuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *The Lancet.* 2009 Mar; 371(9615):838-51
63. NFS: McPherson S, *Am J Gastro*, 2017; Angulo P, *Hepatology*, 2007

64. FIB-4: Shah AG, Clin Gastroenterol Hepatol, 2009; McPherson S, Am J Gastro, 2017
65. APRI: McPherson S, Gut, 2010
66. BARD: McPherson S, Gut, 2010; Shah AG, Clin Gastroenterol Hepatol, 2009
67. UNIGASTRO- Coordinamento Nazionale Docenti Universitari di Gastroenterologia. Malattie dell'apparato digerente. Editrice Gastroenterologica Italiana Roma, editor. 2019.

